AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PELO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO
EM CATETER VENOSO CENTRAL (CVC) DE POLIURETANO REVESTIDO COM ÓXIDO DE
TITÂNIO PARA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

PATRÍCIA DE FREITAS

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

Orientador:

**Prof. Dr. Leonardo Gondim de Andrade e
Silva**

**São Paulo
2018**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PELO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO
EM CATETER VENOSO CENTRAL (CVC) DE POLIURETANO REVESTIDO COM ÓXIDO DE
TITÂNIO PARA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Patrícia de Freitas

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

Orientador:

**Prof. Dr. Leonardo Gondim de Andrade e
Silva**

Versão Corrigida

**São Paulo
2018**

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo estímulo aos meus estudos, em especial ao meu marido que sempre me apoiou.

Ao Prof. Dr. Leonardo Gondim de Andrade e Silva, orientador deste trabalho, pelo seu cuidado, orientação, amizade, pelo companheirismo, pela confiança depositada e estímulo durante o trabalho.

À Dra. Sonia Heilman pela sua ajuda, colaboração e disponibilização de material de estudo.

Ao MSc. Nikolas Harada que gentilmente forneceu o material para análise.

Ao Dr. Thiago L. R. Hower, pela participação fundamental neste trabalho na preparação das amostras.

Ao Dr. Jan Carlo Morais O. E. Delorenzi e a técnica Taira Souza Melo pela realização dos testes de ação antibacteriana nos materiais utilizados neste trabalho.

Ao Prof. MSc. Flávio Sussumu Yasuda pela contribuição durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares pelo suporte e disponibilidade.

Ao Dr. Antônio Carlos da Silva pela realização dos testes de análise da espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier.

Ao laboratório de Caracterização e Processamento de Materiais da Universidade Presbiteriana Mackenzie/SP pela parceria nos testes de microscopia eletrônica de varredura.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP), e ao Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), pela oportunidade e apoio no desenvolvimento e realização deste trabalho.

A todas as demais pessoas, do CTR do IPEN/CNEN-SP, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho especialmente aos colegas de estudo.

À CNEN pela bolsa de mestrado concedida.

*“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo,
participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.”*

Marie Curie

RESUMO

FREITAS, Patrícia de. **Incorporação de nanopartículas de prata pelo processo de irradiação em cateter venoso central (CVC) de poliuretano revestido com óxido de titânio para atividade antimicrobiana**. 2018. 91 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

Os cateteres intravasculares são aliados indispensáveis na prática da medicina moderna, particularmente em unidades de terapia intensiva (UTIs). Pelo Cateter Venoso Central (CVC) pacientes que ficam muito tempo internados recebem medicação e alimentação sendo, no entanto, importante fonte de infecção da corrente sanguínea primária. Os CVC's de poliuretano podem ter sua superfície modificada pela incorporação de titânio e prata (Ti/Ag) que possuem características antimicrobianas conhecidas desde a antiguidade. A incorporação das nanopartículas de prata sobre o polímero pode ser feita com o uso da radiação ionizante, que também irá esterilizar o material. Assim, este trabalho tem por objetivo utilizar a radiação ionizante para incorporação de nanopartículas de prata em Cateter Venoso Central (CVC) a fim de adquirir propriedades antibactericidas. Para isto utilizou-se o CVC *Pellethane 2363-65D*, termoplástico de poliuretano elastômero (TPU), óxido de titânio puro, sintetizado pelo processo sol-gel e nanopartículas de prata (NpAg₉₂₅). A irradiação para incorporação da prata foi com dose de 25 kGy e com taxa de dose de 1,03 kGy/h em um irradiador "Gammacel 220" de ⁶⁰Co. Posteriormente, os cateteres foram esterelizados com dose de 25 kGy. Pode-se concluir que a incorporação da prata pelo processo de irradiação foi possível e que este processo não afeta a estrutura do polímero, o que é importante para a correta inserção do cateter venoso central no corpo do paciente. Observou-se que o método sol-gel, para deposição do titânio na superfície do CVC, não foi homogênea, dificultando a incorporação da prata que depende do titânio neste processo. Os testes de análise antimicrobiana não indicaram atividade antimicrobiana nos cateteres revestido com titânio e prata, acredita-se que a metodologia escolhida seja inadequada para o tipo de análise.

Palavra chave: processo de irradiação, poliuretano, nanopartícula de prata

ABSTRACT

FREITAS, Patrícia de. **Incorporation of silver nanoparticles by the irradiation process in central venous catheter (CVC) of polyurethane coated with titanium oxide for antimicrobial activity**. 2018. 91 p. Dissertation (Masters in Nuclear Technology) - Institute of Energy and Nuclear Research - IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

Intravascular catheters are indispensable allies in the practice of modern medicine, particularly in intensive care units (ICUs). Central Venous Catheter (CVC) patients who are hospitalized for a long time receive medication and feeding, however, being an important source of infection of the primary bloodstream. Polyurethane CVCs may have their surface modified by the incorporation of titanium and silver (Ti/Ag) which have antimicrobial characteristics known from antiquity. The incorporation of the silver nanoparticles on the polymer can be done with the use of ionizing radiation, which will also sterilize the material. Thus, this work aims to use ionizing radiation to incorporate silver nanoparticles in Central Venous Catheter (CVC) in order to acquire antibacterial properties. For this purpose CVC Pellethane 2363-65D, thermoplastic elastomer polyurethane (TPU), pure titanium oxide, synthesized by the sol-gel process and silver nanoparticles (NpAg_925) were used. Irradiation for incorporation of silver was at a dose of 25 kGy and at a dose rate of 1.03 kGy/h in a "Gammacell 220" irradiator of ^{60}Co . Subsequently, the catheters were sterilized at a dose of 25 kGy. It can be concluded that the incorporation of silver by the irradiation process was possible and that this process does not affect the structure of the polymer, which is important for the correct insertion of the central venous catheter into the patient's body. It was observed that the sol-gel method, for deposition of the titanium on the surface of the CVC, was not homogeneous, making difficult the incorporation of the silver that depends on the titanium in this process. The antimicrobial analysis tests did not indicate antimicrobial activity in catheters coated with titanium and silver, it is believed that the chosen methodology is inadequate for the type of analysis.

Keyword (s): irradiation process, polyurethane, silver nanoparticle

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Aspectos microbiológicos relativos à radiação gama	46
Tabela 2 - Valores de massa média determinados nos cateteres após a impregnação de titânio e irradiação para incorporação de prata.....	59
Tabela 3 - Desvio médio e desvio padrão dos valores de massa (g) dos cateteres..	60
Tabela 4 - Resultados da análise de concentração de prata em µg/g.....	61
Tabela 5 - Resultado da quantidade de titânio encontrado no polímero	64
Tabela 6 - Curva padrão da formação de bactérias após o teste antibacteriano para a bactéria <i>E. coli</i>	78
Tabela 7 - Curva padrão da formação de bactérias após o teste antibacteriano para a bactéria <i>S. aureus</i>	79

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Formas de contaminação pelo CVC	22
Figura 2 - Esquema da formação e rompimento do biofilme	24
Figura 3 - Diversos parâmetros que influenciam na adesão bacteriana.....	25
Figura 4 - Pontos de inserção do CVC.....	27
Figura 5 - Cateter venoso central (CVC)	28
Figura 6 - Mecanismo antibacteriano da prata	31
Figura 7 - Ilustração do efeito do íon prata em células de microrganismos	33
Figura 8 - Reações do processo sol gel	35
Figura 9 - Cadeia química do poliuretano	38
Figura 10 - Espectro FTIR do cateter venoso central não irradiado e irradiado	39
Figura 11 - Ionização e excitação.....	40
Figura 12 - Reações de interação da radiação ionizante com o polímero. Processo primário (P = polímero, R = radical)	41
Figura 13 - Exemplos de estruturas químicas de polímeros com diferentes respostas à radiação: polímero reticulável por radiação; degradação de polímeros por radiação e polímero resistente à radiação.	42
Figura 14 - Formas de ligações cruzadas tipo H e tipo T	42
Figura 15 - Classificação dos polímeros de acordo com a sua tendência em interagir com a radiação ionizante	43

Figura 16 - incorporação da prata na cadeia polimérica pelo processo de irradiação.....	44
Figura 17 - Micrografia de cateteres não irradiados e sem revestimentos (a) internamente e (b) externamente	45
Figura 18 - Ilustração do espesso peptidoglicano de bactéria <i>Gram</i> positivo - parede celular.....	47
Figura 19 - Ilustração do espesso peptidoglicano de bactéria <i>Gram</i> negativo- parede celular.....	48
Figura 20 - Sistema com os cateteres e proveta prontos para a incorporação	51
Figura 21 - Cateteres submergidos na solução de titânio para a incorporação das partículas de Ti.....	51
Figura 22 - Preparação dos cateteres na solução de prata para irradiação	52
Figura 23 - Irradiador “Gammacell 220” - IPEN-CNEN/SP	53
Figura 24 - Diagrama esquemático de um equipamento de MEV	54
Figura 25- Equipamento utilizado para o ensaio de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	56
Figura 26 - Lotes com cateteres preparados para teste de ação antibacteriana.....	58
Figura 27 - Mudança visual dos cateteres a partir dos processos de incorporação de titânio e prata.....	61
Figura 28 – Espectros de amostras do CVC com 200 ppm e 300 ppm irradiadas	63
Figura 29 - Gráfico de EDS das amostras de CVC com titânio	64
Figura 30 - Micrografia de CVC com titânio.....	65
Figura 31 - Micrografia de CVC com titânio.....	65
Figura 32 - Micrografia de CVC com titânio.....	66
Figura 33 - Micrografia de CVC com titânio.....	66

Figura 34 - Micrografia de CVC com titânio.....	67
Figura 35 - Micrografia de CVC com titânio e prata	68
Figura 36 - Gráfico de EDS das amostras de CVC com titânio e prata	68
Figura 37 - Micrografia do CVC mostrando a distribuição de titânio e de prata ao longo da superfície do cateter	69
Figura 38 - Cateteres imersos no meio de cultura para exposição às bactérias	70
Figura 39 - Teste de procedimento para análise da formação de colônias	71
Figura 40 - Identificação dos tubos de ensaio por lote, bactéria e tempo de incubação	72
Figura 41 - Tubos de ensaio com cateteres para observação do crescimento de colônias de bactérias.....	73
Figura 42 - Observação do crescimento bacteriano pela turvação da cor do meio de cultura	74
Figura 43 - Análise da formação de colônias para a bactéria <i>E. coli</i> (primeiro teste).	74
Figura 44 - Análise da formação de colônias para a bactéria <i>S. Aureus</i> (primeiro teste)	75
Figura 45 - Análise da formação de colônias para a bactéria <i>E. coli</i> (segundo teste).	75
Figura 46 - Análise da formação de colônias para a bactéria <i>S. Aureus</i> (segundo teste)	76
Figura 47 - Análise da formação de colônias para a bactéria <i>E. coli</i> (terceiro teste).	76
Figura 48 - Análise da formação de colônias para a bactéria <i>S. Aureus</i> (terceiro teste)	77

Figura 49 - Leitura da quantidade de bactérias nos tubos de ensaio por absorbância para a bactéria <i>E. coli</i>	78
Figura 50 - Leitura da quantidade de bactérias nos tubos de ensaio por absorbância para a <i>S. aureus</i>	79
Figura 51 - Comparativo do crescimento das bactérias <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	80
Figura 52 - Concentração de bactérias <i>S. aureus</i> por cateter	81
Figura 53 - Concentração de bactérias <i>E. coli</i> por cateter	82

SUMÁRIO

	Página
1	INTRODUÇÃO.....15
2	OBJETIVOS.....19
2.1	Objetivo Geral.....19
2.2	Objetivos específicos.....19
3	REVISÃO DE LITERATURA.....20
3.1	Cateter Venoso Central (CVC) e a formação do biofilme.....20
3.2	Nanopartícula de prata e suas propriedades bactericidas.....29
3.3	Dióxido de Titânio (TiO₂).....33
3.3.1	Método sol gel.....35
3.4	Polímeros.....36
3.4.1	Poliuretano (PU).....37
3.5	Irradiação de polímeros.....39
3.5.1	Radiação.....39
3.5.2	Interação da radiação com os polímeros.....40
3.5.1	Esterilização.....45
3.5.2	Bactéria Gram positivo e Gram negativo.....46
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....49
4.1	Materiais.....49
4.1.1	Cateter de Poliuretano.....49

4.1.2	Nanopartícula de Prata.....	49
4.2	Preparação das amostras.....	50
4.2.1	Revestimento de óxido de titânio (TiO ₂) no CVC's.....	50
4.2.2	Incorporação da nanopartícula de prata.....	52
4.2.3	Irradiação dos CVC's revestidos com titânio e prata.....	53
4.3	Métodos.....	54
4.3.1	Caracterização das amostras.....	54
4.3.1.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	54
4.3.1.2	Análise por ativação neutrônica	55
4.3.1.3	Espectroscopia de Absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	56
4.3.1.4	Teste de ação antibacteriana por macro diluição.....	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.1	Massa (em gramas) dos cateteres depois da impregnação de titânio e prata.....	59
5.2	Aspecto visual da incorporação do titânio e da prata.....	60
5.3	Análise por ativação neutrônica.....	61
5.4	Análise da espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier.....	62
5.5	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	63
5.5.1	Identificação do titânio.....	63
5.5.2	Identificação da prata.....	67
5.6	Teste de ação antibacteriana.....	70
5.6.1	Teste de procedimento para ajustes da metodologia	70

5.6.2	Teste de macrodiluição para crescimento ou não de colônias de bactérias e análise de dados.....	71
6	CONCLUSÕES.....	83
7	SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	85
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

1 INTRODUÇÃO

Este trabalho é uma continuação da tese de doutorado intitulada “Efeito da radiação ionizante nos revestimentos de cateteres de poliuretano com nanopartículas de prata” realizada pelo grupo de polímeros do Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) (HEILMAN, 2015). Essa tese fez parte do projeto CAPES “Nanopartículas de prata aplicadas em cateteres intraluminais para prevenção de infecção da corrente sanguínea: desenvolvimento do produto, testes *in vitro* e estudos *in vivo* pré-clínicos”, que está associado a várias instituições:

- Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Capital.
- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN – CNEN/SP.
- Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, IPT.
- Universidade Federal de São Carlos, UFSCar.
- Instituto de Física de São Carlos, USP.

Na área temática de desenvolvimento do revestimento, a linha de pesquisa de preparação dos revestimentos poliméricos contendo nanopartículas de prata, teve a parceria do IPT no Bionano-Núcleo de Bionanomanufatura LPP - Laboratório de Processos Químicos e Tecnologia de Partículas com o Centro de Tecnologia das Radiações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN–CNEN/SP), para reticulação de polímeros e, por conseguinte para o revestimento do cateter.

O projeto surgiu da necessidade de se avaliar alternativas para um dos maiores desafios do tratamento de pacientes gravemente enfermos que é a contaminação de cateteres introduzidos na corrente sanguínea e subsequente infecção sepse grave e choque séptico, associados com a elevada morbimortalidade.

Os cateteres intravasculares são indispensáveis na prática da medicina moderna, particularmente em unidades de terapia intensiva (UTIs) sendo, no

entanto, importante fonte de infecção da corrente sanguínea primária (McGEE e GOULD, 2003). Este acesso vascular é essencial à administração de fluidos e medicamentos durante o suporte à vida.

A cateterização venosa central proporciona acesso mais seguro à circulação sistêmica e permite a administração de medicamentos que podem lesar tecidos quando ocorre extravasamento a partir de um acesso venoso periférico como vasopressores e soluções hipertônicas de bicarbonato de sódio, cálcio e suporte nutricional, assim como, permitem a medição de hemodinâmicas que não podem ser aplicados com precisão por meios não invasivos e regulares intervenções (CARLOTTI, 2012; McGEE e GOULD, 2003), mas o uso de Cateteres Venosos Centrais (CVC) embora seja importante para o tratamento de enfermos, está associado a efeitos adversos que podem ser perigosos para a saúde dos pacientes e com tratamento de custo alto (McGEE e GOULD, 2003).

O Cateter Venoso Central (CVC) tem sido associado a um número elevado de infecções na corrente sanguínea. Estima-se que nos Estados Unidos, pelo menos 80.000 cateteres/ano estão relacionados a infecções da corrente sanguínea em unidades de terapia intensiva. Estes cateteres relacionados à infecção da corrente sanguínea estão associados com 24.000 mortes de pacientes e aumento dos custos de cuidados de saúde que variam de aproximadamente US\$ 10.000 para US\$ 63.000 por caso. Além disso, prolonga o tempo médio de internação em 12 dias sobrecarregando o sistema de saúde, bem como os pacientes e suas famílias (KNETSCH e KOOLE, 2011).

No trabalho realizado por HEILMAN (2015) foi identificado o poli(eteruretano) como sendo o tipo de polímero do CVC estudado por ela. Os poli(eteruretanos) possuem propriedades mecânicas adequadas, são biocompatíveis com outros materiais médicos e sensíveis à formação de filme microbiano (ROOHPOUR et al., 2012). Segundo HEILMAN (2015), o poli(eteruretano) pode ser sintetizado com grupos funcionais de lactato de prata e sulfadiazina de prata para produzir um polímero resistente às bactérias sem sacrificar as propriedades mecânicas do poli(eteruretano).

Os Cateteres Venosos Centrais (CVC) são materiais que se mantêm em contato com a pele humana por isso são classificados como biomateriais. Os biomateriais são dispositivos utilizados para substituir uma parte ou uma função do

corpo de forma segura, confiável, econômica e fisiologicamente aceitável, também são materiais sintéticos utilizados para substituir parte de um sistema ou apenas por estar em contato íntimo com o tecido vivo (COOPER et al., 2004).

Os polímeros representam a maior classe de biomateriais podendo ser modificados mediante a nanotecnologia. Com características adequadas, os materiais poliméricos podem vir a ser dispositivos ortopédicos, dentários, tecidos moles, cardiovasculares e implantes. A aplicação da nanotecnologia tem sido uma aliada na busca de biomateriais poliméricos com propriedades antibactericidas adequadas uma vez que, para aplicação na área médica, aditivos inorgânicos podem ser incorporados ao material, entre estes aditivos, destacam-se as nanopartículas de prata (COOPER et al., 2004). Segundo HEILMAN (2015) os íons prata podem ser covalentemente incorporados no polímero durante a extensão da cadeia do pré-polímero sem que as propriedades mecânicas, hidrofiliicidade, estabilidade *in vitro* e ação antibacteriana de polímeros sejam afetados significativamente por esta incorporação na estrutura do polímero e mesmo com pequeno teor de prata nas membranas já se observa uma atividade antibacteriana significativa.

A eficácia das nanopartículas de prata, quando aplicadas em cateteres, não depende apenas das características físico-químicas e morfológicas das partículas, mas também das características do material do cateter e de como a prata se distribui sobre ele.

A incorporação das nanopartículas de prata sobre o polímero pode ser feita com o uso da radiação ionizante. Esta radiação pode ser classificada em eletromagnética e partículas com carga elétrica, como elétrons. Esse tipo de radiação é emitido por elementos com núcleos atômicos instáveis ou pode ser produzido pelos equipamentos denominados fontes intensas de radiação, como os aceleradores de elétrons (FEITOSA, 2008).

Ainda segundo FEITOSA (2008) nos polímeros a radiação ionizante induz a formação de espécies químicas muito reativas como os radicais livres e os íons, que iniciam reações químicas e modificam a estrutura molecular com a formação de ligações cruzadas ou reticulações e cisão das cadeias, dependendo das doses de radiação aplicadas e das condições de irradiação.

Neste trabalho o processo de irradiação além de ser utilizado para a incorporação da nanopartícula de prata ao CVC também vai esterilizar o material, que já estará disponível para uso final.

Assim sendo, buscou-se ampliar os estudos sobre este tema a fim de encontrar novas alternativas de recobrimento de Cateteres Venosos Centrais (CVC) com nanopartículas de prata e ação preventiva à formação do biofilme evitando assim, contaminações da corrente sanguínea associadas a eles. Acredita-se que a incorporação das nanopartículas pelo processo de irradiação após a incorporação da camada de titânio para revestimento, proporcionará um polímero com ação antibacteriana e esterilizado, estes efeitos foram avaliados pelos testes de ação antibacteriana dos CVC com diferentes cepas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Utilizar a radiação ionizante para incorporação de nanopartículas de prata em Cateter Venoso Central (CVC) a fim de adquirir propriedade antibacteriana.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar diferentes concentrações de nanopartículas de prata para a aderência ao CVC com óxido de titânio por meio da radiação ionizante.

- Avaliar o efeito da radiação ionizante no Cateter Venoso Central (CVC).

- Avaliar a atividade antibacteriana em Cateter Venoso Central (CVC) revestidos com óxido de titânio e nanopartículas de prata.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cateter Venoso Central (CVC) e a formação do biofilme

As infecções provocadas por dispositivos médicos são causadoras de taxas altas de morbidade, especialmente os dispositivos médicos sintéticos que são implantados no paciente. KNETSCH e KOOLE (2011) em seus estudos ressaltaram que embora a taxa de infecção seja relativamente baixa, um grande volume de dispositivos médicos foi responsável por um grande número de infecções.

A resistência bacteriana em infecções associadas a biofilmes dificulta o tratamento do paciente, pois possui consequências diretas (maior tempo de internação, custo de antibioticoterapia e medicamentos complementares, custos com médicos e procedimentos para diagnósticos) e indiretas (absenteísmo e desemprego) no desfecho clínico e na qualidade de vida do paciente (TRENTIN; GIORDANI e MACEDO, 2013).

KNETSCH e KOOLE (2011) reforçaram estas situações com o seguinte exemplo: a partir de aproximadamente 800.000 implantes ortopédicos implantados na Europa, pelo menos, 1,5%, ou seja, 12.000 provocaram infecções. Estas infecções, por sua vez, resultaram não só em hospitalização prolongada e aumento dos custos de saúde associados, mas também em maior morbidade. Estimou-se que o gasto relacionado com o tratamento dessas infecções foi maior do que o gasto envolvido com a retirada e com a troca do dispositivo biomédico e, frequentemente, o principal manejo nas infecções em dispositivos está na sua remoção (TRENTIN; GIORDANI e MACEDO, 2013).

Em muitos casos, quando o dispositivo infectado não pode ser removido, os pacientes enfrentam uma supressiva terapia antimicrobiana para a prevenção de infecções sistêmicas recorrentes. O custo para tratar as infecções associadas a implantes biomédicos foi estimado em torno de 5 a 7 vezes o custo da inserção

original. No caso de um cateter venoso central (CVC), o custo da sua remoção e substituição pode ser tão elevado quanto US\$ 14 mil por incidência e o custo anual de pacientes com infecções sanguíneas associadas à CVC pode variar em torno de US\$ 296 milhões (TRENTIN; GIORDANI e MACEDO, 2013).

Sendo o Cateter Venoso Central (CVC) associado a um número elevado de infecções na corrente sanguínea, esforços tecnológicos têm sido aplicados para melhorá-los com foco de interesse no sistema de entrega de medicação. Já o Cateter Venoso Central (CVC) com uso no acesso venoso tem potencial para infecção e sepse no local de saída da pele em razão da formação de um biofilme formado por bactérias que aderem à superfície do cateter ou da pele (WILSON, 2010). O risco de infecção relacionado ao acesso vascular também pode estar associado à localização do acesso, solução infundida, experiência do profissional realizando o procedimento, tempo de permanência, tipo e manipulação do cateter, entre outros (RIBEIRO; FERNANDES e RIBEIRO *apud* MESIANO e MERCHÁN-HAMANN, 2007). Tais fatores constituíram pontos estratégicos importantes para ações preventivas dessas infecções, ou seja, somente a esterilização do cateter não foi suficiente para evitar contaminações.

Em seu estudo, MESIANO e MERCHÁN-HAMANN (2007) concluíram que de 630 pacientes usando CVC, 6,4% apresentaram infecção da corrente sanguínea, sendo 1,5% por infecção da corrente sanguínea relacionada ao cateter e 4,9% infecção da corrente sanguínea clínica. A presença de infecção aumentou significativamente a permanência de internação dos pacientes nas UTIs, com tempo médio de 40,3 dias, aproximadamente 3,5 vezes mais do que o paciente que não apresentou infecção, que foi de 11,5 dias. Possivelmente esse aumento da permanência de internação está diretamente relacionado à gravidade do paciente como também à presença de infecção.

KNETSCH e KOOLE (2011) destacaram estudos feitos nos Estados Unidos onde pelo menos 80.000 cateteres/ano, utilizados em centro de terapia intensiva, foram relacionados a infecções na corrente sanguínea sendo associados a 24.000 mortes de pacientes e aumentando os custos de cuidados de saúde em média de U\$ 10.000 para U\$ 63.000 por caso, além de prolongar o tempo médio de internação em 12 dias. Estes aumentos de custos e tempo de internação sobrecarregaram o sistema de saúde, os pacientes e as famílias. Os autores

também revelaram que estas infecções foram consideradas pelas companhias de seguros de saúde como evitáveis e assim poderiam não reembolsar os associados pelos custos provenientes destas infecções, o que sinalizou uma importância em políticas públicas para combater estas infecções, hoje a responsabilidade recai sobre os hospitais.

A infecção provocada pelos dispositivos implantados podem ter várias fontes (KNETSCH e KOOLE, 2011):

- a) a superfície do implante/dispositivo contaminada;
- b) as mãos da equipe cirúrgica durante a implantação/aplicação;
- c) a própria membrana da pele ou mucosa do paciente;
- d) locais distantes de infecção no paciente;
- e) desinfetantes contaminados;
- f) contato com outros pacientes no hospital ou a família após a intervenção.

Estes modos de contaminação podem ser observados na Figura 1 mas, também, podem ser evitados com cuidados na higiene dos hospitais, porém, não completamente, o que necessita de buscas por estratégias preventivas de infecções causadas por adesão de patógenos ou microrganismos. Para buscar formas de combate a estas infecções faz-se necessário conhecer seu mecanismo.

Figura 1 - Formas de contaminação pelo CVC

Fonte: ANVISA, 2010.

Segundo KNETSCH e KOOLE (2011) o implante médico é entregue em embalagem hermética, limpa e esterilizada. Após a implantação do CVC, proteínas do sangue ou tecidos são adsorvidos sobre a superfície do implante. Esta adsorção pode se dar pela hidrofobicidade da superfície, aspereza, porosidade, composição química, concentração da solução de proteína, sal, pH, entre outros. Esta camada de proteínas adsorvidas é importante para a adesão das bactérias. O autor seguiu relatando que as bactérias em estado planctônico, *in vivo*, serão adsorvidas pelas proteínas da superfície aumentando em número por proliferação e recrutamento de outras bactérias do ambiente. O aumento da população das bactérias formará uma colônia na superfície que irá alterar o padrão de expressão do gene. Os genes ativos serão responsáveis pela produção de substâncias poliméricas extracelulares, que são essenciais na formação de biofilme. Este biofilme é uma folha protetora em torno das bactérias sésseis protegendo-as da tensão de cisalhamento, do ataque do sistema imunitário dos hospedeiros e contra substâncias antibióticas. Na morfologia do biofilme a camada de lodo é composta principalmente, de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Esta matriz de EPS pode ter composição variável, mas é principalmente composta por polissacarídeos. Os materiais não celulares provenientes do meio ambiente podem ser incluídos como partículas de corrosão, partículas de detritos, componentes do sangue, cristais minerais, entre outros. O biofilme também é altamente hidratado com 95% de água. Sua morfologia é porosa com buracos e túneis, não sendo sólida. O confinamento das bactérias no biofilme dificulta o transporte de oxigênio e nutrientes para as bactérias, esta condição anaeróbia modifica o gene do metabolismo das bactérias diminuindo a sensibilidade da bactéria aos antibióticos.

Na Figura 2 pode-se observar a representação esquemática da formação do biofilme conforme os seguintes passos:

- as proteínas do paciente adsorvem-se rapidamente sobre a superfície de um dispositivo implantado formando o substrato para a planctônica, onde as bactérias nadam livre até a aderência;
- as bactérias sésseis recrutam bactérias adicionais a partir do ambiente e também proliferam na superfície;
- as bactérias aderidas alteram o padrão de expressão gênica e produzem a substância polimérica extracelular, principal componente do biofilme;

- o biofilme cresce lentamente junto com micro colônias de bactérias que crescem em seu interior;
- pequenas partes do biofilme se rompem liberando bactérias planctônicas que podem invadir novas superfícies.

Figura 2 - Esquema da formação e rompimento do biofilme

Fonte: KNETSCH e KOOLE, 2011.

O tratamento pós infecção pelo biofilme é muito difícil, em razão de sua natureza viscosa que impede a penetração dos antibióticos, consequentemente as bactérias não podem ser mortas. Diante deste fato, KNETSCH e KOOLE (2011) sugerem a modificação das superfícies dos implantes como uma estratégia eficiente para combater a infecção provocada por implantes biomédicos, principalmente modificações que impeçam a colonização bacteriana da superfície, pois evitaria as infecções relacionadas a implantes e permitiria que o sistema imunológico do paciente alcançasse os agentes infecciosos removendo-os da superfície do implante e dos tecidos circundantes.

De acordo com TRENTIN et al. (2013), com a modificação de superfícies, de maneira geral, é possível:

- modificar a superfície externa de um material para dificultar a adesão e colonização microbiana e/ou facilitar a biocompatibilidade material/tecido, mantendo inalteradas as propriedades mecânicas, o volume e as funcionalidades desejáveis do material e

- (ii) introduzir sítios na superfície do material para a imobilização de moléculas ativas.

Esta modificação na superfície é apenas em uma parte da solução, pois as propriedades do material, técnicas de assepsia e falta de respeito e controle aos procedimentos também são fatores de risco.

As características topológicas e químicas do dispositivo médico são importantes para a taxa de aderência de microrganismos. Assim, as superfícies lisas terão menor probabilidade de aderência que as superfícies ásperas. As superfícies hidrófilas são povoadas por bactérias de livre natação de forma mais lenta que as hidrofóbicas. No entanto, a aderência de microrganismos é quase sempre dependente da formação de uma camada proteica na superfície, expondo locais de afinidade elevada, por isso é importante considerar a aderência de proteínas na superfície como um parâmetro ao se projetar uma superfície antimicrobiana.

Na Figura 3 são mostrados diversos parâmetros que influenciam na adesão bacteriana, considerando-se microambiente, superfície e bactéria.

Figura 3 - Diversos parâmetros que influenciam na adesão bacteriana

Fonte: TRENTIN; GIORDANI e MACEDO, 2013.

O Cateter Venoso Central (CVC) é um dispositivo médico implantável definido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010) a saber:

- a) *de curta permanência*, aqueles que atingem vasos centrais (subclávia, jugular, femoral) e são instalados por venopunção direta e não são tunelizados. Esses dispositivos não possuem nenhum mecanismo para prevenção de colonização extraluminal e são frequentemente empregados quando há necessidade de acesso central por períodos curtos (tipicamente entre 10 e 14 dias), de onde deriva sua denominação;
- b) *de permanência longa*, são aqueles que atingem vasos centrais (subclávia, jugular, femoral) são instalados cirurgicamente e apresentam algum mecanismo para evitar a colonização bacteriana pela via extraluminal, frequentemente empregados quando há necessidade de acesso central por períodos mais prolongados (acima de 14 dias), de onde deriva sua denominação e subdividem-se em semi-implantados (o acesso ao vaso dá-se por intermédio de um túnel construído cirurgicamente e a presença de um *cuff* de Dacron gera uma reação tecidual que sela a entrada de bactérias da pele);
- c) *totalmente implantados*, neste caso o acesso ao vaso central dá-se por intermédio da punção de um reservatório implantado cirurgicamente sob a pele e a entrada de bactérias é impedida pela própria pele supra-adjacente.

Na Figura 4 são mostrados os pontos de inserção que atingem os vasos centrais (subclávia, jugular, femoral).

Figura 4 - Pontos de inserção do CVC

Fonte: adaptado de SANTOS (s/d).

Segundo citado em seu trabalho, HEILMAN (2015) diz que o corpo do cateter é feito com material de qualidade, rigidez, flexibilidade e consistências exatas para uma inserção correta, bem como resistência para prevenir dobras e fraturas assegurando vias livres para a introdução das terapias sob as condições normais de utilização, evitar irritação mecânica no sistema vascular, possuir termoestabilidade ampla, resistência química suficiente, nível de aderência/fixação de células e tecidos baixos e trombogenicidade. Estas características figuram entre as utilizadas para julgar qual é o tipo de cateter mais apropriado para cada situação. Ambos, cateteres de poliuretano e silicone possuem boa bioestabilidade e pouca trombogenicidade. Os Cateteres Venosos Centrais de poliuretano, no entanto, têm paredes mais finas que os de silicone permitindo lúmen com maior diâmetro que os cateteres de outros materiais, são mais duros e mais resistentes, se dobram menos, suportam maior pressão e mais resistentes aos produtos químicos em comparação com os de silicone, mas apresentam restrição de uso com soluções antissépticas à base alcoólica como a clorexidina, as quais elevam o risco de fratura/quebra do cateter (TRINDADE et al. 2007). Assim sendo, os poliuretanos são bastante utilizados na medicina para revestimento e acondicionamento implantável e outros dispositivos médicos. Na Figura 5 é mostrada a imagem do CVC.

Figura 5 - Cateter venoso central (CVC)

Fonte: OLIVEIRA, 2016.

O CVC é um dispositivo médico também definido como biomaterial. O Conselho Consultivo da Universidade de *Clemson for Biomaterials* definiu formalmente um biomaterial como "uma substância farmacologicamente inerte sistemicamente e concebido para implantação no interior de ou incorporação com sistemas vivos".

O sucesso de biomateriais no corpo depende das propriedades do material, *design*, biocompatibilidade do material utilizado, da técnica utilizada pelo cirurgião, da saúde, condição e atividades do paciente. A biocompatibilidade envolve a aceitação de um implante artificial pelos tecidos circundantes e pelo corpo como um todo, pois materiais biocompatíveis não irritam as estruturas circundantes, não provocam resposta inflamatória anormal, não incitam reações alérgicas ou imunológicas e não causam câncer. As características de compatibilidade para a função de um dispositivo de implante feito de biomateriais incluem as propriedades mecânicas (resistência, rigidez e fadiga), propriedades ópticas e densidade adequadas a esterilização, fabricação, armazenamento de prazo longo e *design* (PARK e BRONZINO, 2003). As membranas poliméricas são bastante utilizadas como biomateriais com aplicações diversas, entre elas estão a pele artificial, ataduras, balões para armação de *stents* coronários, balão angioplastia, fixação de cateteres de alimentação parenteral por gastrostomia, balões intra-gástricos, bandas

gástricas, entre outros. Os materiais mais utilizados nestas aplicações são: poliuretano, polipropileno, polimetacrilato de metila, dentre outros (HARADA, 2014).

Em seus estudos TRENTIN et al. (2013) compararam tipos diferentes de materiais em relação à adesão do biofilme e observaram que o policloreto de vinila (PVC) e o silicone favorecem mais a adesão bacteriana do que o politetrafluoretileno (PTFE); o polietileno (PE) mais que o poliuretano (PU); a borracha natural mais que o silicone; o aço inoxidável mais que o titânio, evidenciando as características químicas e físicas do CVC para formação do biofilme e consequentemente uma melhor biocompatibilidade. Por isso que, segundo os autores, o recobrimento de superfícies com os mais diversos compostos bioativos passaram a ser investigado para prevenir a formação de biofilmes em biomateriais. Esse recobrimento pode ocorrer, basicamente, por adsorção ou por ligação covalente do composto com a superfície.

3.2 Nanopartícula de prata e suas propriedades bacterianas

Nos últimos anos o uso de materiais nobres, em particular de prata, tem aumentado devido à evolução de bactérias resistentes a antibióticos (KNETSCH e KOOLE, 2011).

As nanopartículas (NPs) de prata são de interesse por causa de suas propriedades únicas podendo ser utilizadas em aplicações antibacterianas, materiais de biossensor, fibras compostas, materiais condutores de supercriogênicos, produtos cosméticos e componentes eletrônicos. Algumas aplicações importantes de NPs de prata em produtos farmacêuticos, medicina e odontologia foram estudadas por IRAVANI et al. (2014).

A prata é um metal precioso e de alta condutividade elétrica. Na forma de nanopartículas suas propriedades tornam-se aumentadas em razão do aumento dos pontos de contato disponíveis no material, ou seja, as propriedades dessas nanopartículas diferem daquelas em escala macroscópica (PARUSSULO; ZOUZA e NAKATANI, 2007).

A existência de nanopartículas metálicas de prata se dá desde a antiguidade e sua aplicação como agente de preservação e antibacteriana remonta há 4000 anos a.C. (KNETSCH e KOOLE, 2011). Estudos mostraram que a

geometria triangular da prata contendo mais que 1 μg , exerce propriedades antibacterianas enquanto as geometrias esféricas e bastonetes necessitam massa da ordem de 12,5 e 50-100 μg respectivamente (ALARCON; GRIFFITH e UDEKWU, 2015).

A principal característica da prata nanométrica, motivando a maior parte de suas aplicações, é a sua toxicidade em uma gama de microrganismos. Sua ação bactericida é conhecida em pelo menos 650 espécies de bactérias (ROOHPOUR et al. 2012). As nanopartículas de prata agem de três formas diferentes contra as bactérias (HEILMAN, 2015):

(1) nanopartículas principalmente na faixa entre 10 a 100 nm atacam a superfície da membrana celular da bactéria e perturbam drasticamente o seu funcionamento, como a permeabilidade e a oxigenação;

(2) elas são capazes de penetrar na bactéria e causar danos pela interação com compostos contendo sulfato e fosfato, como o DNA;

(3) nanopartículas liberam íons de prata, os quais têm uma contribuição adicional ao efeito bacteriano.

A redução dos íons de prata em solução aquosa geralmente produz prata coloidal com diâmetros de partícula de diversos nanômetros. Inicialmente, a redução de vários complexos com íons Ag^+ levam à formação de átomos de prata (Ag^0), que é seguido pela aglomeração de oligômeros. Essas aglomerações eventualmente levam à formação de partículas de Ag^+ coloidais. Quando as partículas coloidais são muito menores que o comprimento de onda da luz visível, as soluções têm uma coloração amarelada com uma intensa banda intensa na faixa de 380-400 nm e outras bandas menos intensas ou menores em comprimentos de ondas maiores no espectro de absorção (KAPOOR et al. 1994).

A prata coloidal apresenta ação contra bactérias Gram-positivos como *Staphylococcus aureus* e Gram-negativos como *Escherichia coli*. Em 1993, o cientista suíço *Karl Wihelm von Naegelis* quantificou pela primeira vez o efeito antibacteriano dos íons de prata contra células eucarióticas e procarióticas de algas (SONAI, 2008).

Do ponto de vista médico, a prata também tem uma história de uso. Os egípcios, gregos e romanos antigos utilizaram sais de metais (zinco, cobre, prata, mercúrio) para limpar feridas e os fios de prata foram utilizados como suturas

(KNETSCH e KOOLE, 2011). A utilização de sais de prata e prata pura para limpar feridas e promover a cura permaneceu até o século XX. A prata era, e ainda é usada em curativos e aplicada com sucesso em feridas abertas infectadas, úlceras de pele, fraturas expostas e para queimar lesões. O encerramento das feridas e fístulas utilizando suturas de prata mostrou-se bem sucedida na prevenção de infecções. Também foram utilizadas as soluções de nitrato de prata para evitar infecções e em colírios para combater infecções oculares. No final do século XIX o primeiro uso da prata coloidal foi relatado para antissepsia de feridas. O uso de soluções de prata (nitrato de prata em sua maioria) tornou-se uma terapia difundida até a descoberta e introdução dos antibióticos no século XX. Em seus estudos TRENTIN et al. (2013) relataram que a incorporação da prata na superfície de tubos endotraqueais foi extremamente efetiva na redução da colonização bacteriana. Porém, outros estudos mostraram não haver diferença significativa nas taxas de infecção em relação a cateteres revestidos com prata e não revestidos, mas evidências experimentais sugeriram que a diminuição da atividade antibacteriana pode ser devida à adsorção da prata à albumina.

Uma possível explicação para a atividade antibacteriana de partículas de prata compreende a transferência direta de íons de prata, a partir de nanopartículas oxidadas, a alvos biológicos como proteínas ou à membrana celular conforme, mostrado na Figura 6.

Figura 6 - Mecanismo antibacteriano da prata

Fonte: KNETSCH e KOOLE, 2011.

O mecanismo exato pelo qual a prata exerce a sua atividade antimicrobiana ainda permanece obscuro até hoje. Segundo KNETSCH e KOOLE (2011) a prata pode ser aplicada em diferentes formas: como metal, um composto ou íon dissolvido livre. Recentemente foi descoberto que o íon de prata (Ag^+) é o responsável pela atividade antimicrobiana. Segundo os autores, foi a introdução de nanopartículas de prata que teve um impacto grande sobre o uso da prata, há evidências circunstanciais de que estas partículas têm atividade antimicrobiana. O que está claro é que o uso adequado e a aplicação desta forma de prata pode reduzir a infecção microbiana, no entanto, há algumas dúvidas sobre a segurança de tais partículas. Em razão do tamanho pequeno (nanopartícula) em combinação com propriedades diferentes, tem sido sugerido que estas partículas possam apresentar nanotoxicidade. Os estudos *in vitro* têm, na verdade, demonstrado que algumas concentrações de nanopartículas de prata têm efeitos nocivos sobre células que podem levar à morte celular. Resta ser determinado se as nanopartículas de prata serão seguras em pacientes a prazo longo (KNETSCH e KOOLE, 2011). Porém, em relação a ação das nanopartículas de prata, MENDONÇA (2009) encontrou em seus estudos evidências de que os metais pesados liberam os íons que reagem com os grupos tióis e grupos (-SH) das proteínas da superfície. Tais proteínas projetam-se através da membrana celular bacteriana, permitindo o transporte dos nutrientes através da parede celular. Íons monovalentes de prata (Ag^+) substituem o cátion de hidrogênio (H^+) de grupos (-SH) ou grupos tióis, inativando a proteína e assim, diminuindo a permeabilidade da membrana, podendo causar a morte celular. A reação da prata monovalente com grupos (-SH) produz grupos (-S Ag) muito mais estáveis na superfície bacteriana da célula, constatando uma ausência de prata no seu interior, pode-se observar este efeito na ilustração mostrada na Figura 7. Isto poderia explicar porque somente as bactérias e os vírus são afetados pelos íons prata, já que as células que fazem parte da classe dos mamíferos, não apresentaram grupos (-SH) exteriores ou na superfície. Segundo MENDONÇA (2009) os íons prata não são capazes de permear através das membranas celulares e então reagir com o interior celular (contendo grupos -SH) tornando a prata relativamente não tóxica aos seres humanos e aos animais, a falta dos grupos tióis exteriores não permitem a interação das células com a prata.

Figura 7 - Ilustração do efeito do íon prata em células de microrganismos

Fonte: SONAI, 2008.

3.3 Dióxido de Titânio (TiO₂)

O titânio é o nono elemento mais abundante na terra e tem forte afinidade com o oxigênio, é resistente à corrosão, tem brilho prateado, é leve e tão resistente quanto o aço, 95% do titânio utilizado no mundo é aplicado na forma de óxido (ALMEIDA, 2011).

Os nanomateriais são definidos como partículas variando de 1 a 100 nm de diâmetro, e tornaram-se bastante utilizados ao longo do tempo em razão de suas propriedades físico-químicas únicas. Entre estas nanopartículas, o dióxido de titânio (TiO₂) é frequentemente usado na produção de tintas, papel, plásticos, material da haste de soldadura de revestimento, cosméticos, entre outros. O TiO₂ é o mais utilizado como fotocatalisador semicondutor. Entre os diferentes nanomateriais é o mais estudado e ativado por irradiação UV-A e em razão de suas propriedades catalíticas tem sido utilizado em várias aplicações (HEILMAN, 2015). OHKO et al. (2001) estudaram a fotocatalise do TiO₂ desde a descoberta de clivagem fotocatalítica da água sobre eletrodos de TiO₂. Os fotocatalisadores de TiO₂ iluminados podem decompor a maioria dos compostos orgânicos nocivos ou tóxicos por parte do combinado da ação dos radicais hidroxila (OH[•]) e os radicais superóxido (O₂^{•-}) produzido pela redução do oxigênio. Recentemente, o grupo de estudos de OHKO et al. (2000) relatou que muitos tipos diferentes de materiais de TiO₂ revestidos possuem desodorização, funções e auto *cleaning* antibacterianos sob a luz UV de intensidade baixa. Além disso, os TiO₂ são quimicamente e fisicamente estáveis e seguros o suficiente para serem usados como um aditivo para alimentos e cosméticos. Portanto, ao se preparar CVC revestidos com TiO₂ fotocatalisador,

espera-se que os cateteres irão possuir benefícios únicos e práticos, especificamente efeitos antibacterianos de longa duração e de autolimpeza sob exposição intermitente à luz em níveis apropriados. Pode-se citar aplicações de TiO_2 nas áreas médicas, ambiental, sensores e fotocatalíticas.

LIAO et al. (2010) demonstraram que placas de titânio (Ti) com incorporação de nanopartículas de prata (Ti-NAg) adquiriram atividade antibacteriana após 24 horas de incubação, 94% das cepas de *Staphylococcus aureus* e mais de 95% de *Escherichia coli* foram mortas na superfície de titânio modificado com Ti-NAg. Também observou-se na superfície do Ti-NAg atividades antibacterianas e antiadesivas para células bacterianas *Porphyromonas gingivalis* (Pg, ATCC33277; ATCC, Rockville MD) e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa, ATCC43718). Além disso, a modificação de superfícies de Ti com nanopartículas de prata não mostraram citotoxicidade detectável em fibroblastos gengivais humanos (hGFs) cultivadas, demonstrando que a superfície de Ag-Ti possui atividade antibacteriana óbvia e excelente compatibilidade celular. Estes dados sugerem que o Ti-NAg é um material promissor com propriedades antibacterianas e pode ser usado como um biomaterial implantável.

Estudos recentes vêm demonstrando que quando se impregna nanopartículas em materiais poliméricos estes tornam-se versáteis e podem ter grande utilização nas aplicações médicas (MARTINS et al. 2007), porém KNESTSCH e KOOLE (2011) ressaltaram que a eficácia de tais dispositivos médicos modificados dependeram da natureza da partícula de prata e da forma. Para PAUKSCH et al. (2013) os estudos realizados *in vitro* mostraram que a aplicação local de liga de titânio revestido de nanopartículas de prata não induz citotoxicidade em células estaminais mesenquimais humanas e osteoblastos. A superfície áspera do implante foi ainda capaz de estimular a diferenciação osteogênica. Portanto, a concentração de nanopartículas de prata utilizado no revestimento de titânio parece representar uma janela terapêutica adequada, que por um lado permite eficácia antibacteriana e, por outro lado, apoia o trabalho de citocompatibilidade.

A riqueza de informações sobre o TiO_2 fotocatalítico na ativação de bactérias foi adquirida ao longo dos últimos 20 anos. Muitos métodos de síntese de TiO_2 são descritos na literatura, entre eles o método sol gel.

3.3.1 Método sol gel

O termo “sol” é geralmente empregado para definir uma dispersão de partículas coloidais com dimensões entre 1 a 100 nm, estável em um fluido, enquanto o gel pode ser visto como sendo um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios. Desta forma os géis coloidais resultam da agregação linear de partículas primárias, que ocorrem pela alteração das condições físico-químicas da suspensão (ALMEIDA, 2011).

O método consiste em introduzir um núcleo cristalino em uma matriz a fim de reduzir a energia de nucleação requerida para formar a fase desejada (CAMPOS, 2005). O processo sol gel se caracteriza pela transição de um sistema sol para o sistema gel. Dessa forma, os géis coloidais resultam da agregação linear de partículas primárias, que ocorrem pela alteração das condições físico-químicas da suspensão, preparados a partir de soluções onde se promovem as reações de polimerização. O processo sol gel ocorre por meio de reações de hidrólise, condensação e policondensação, mostradas na Figura. 8.

Figura 8 - Reações do processo sol gel

Fonte: PENA, 2015.

Inicialmente, ocorre a hidrólise de alcóxidos precursores que neste caso, para obtenção de materiais à base de TiO_2 , o mais comumente usado é o tetraisopropóxido de titânio ($\text{Ti}(\text{OCH}_3)_4$).

A reação ocorre na presença de água, adicionando um ácido, geralmente HCl ou uma base (NH_3), como catalisador da reação. A reação de hidrólise dos grupos alcóxidos (OR) presentes dá origem aos grupos hidroxilas (OH^-) com a liberação de um respectivo álcool. Dessa forma, as reações de condensação entre grupos hidroxilas levam à formação de um sol, que posteriormente origina o gel, formando uma estrutura rígida que imobiliza a fase líquida de seus poros. Logo após este processo, ocorre a expulsão do líquido presente nos poros com a posterior redução de volume em razão da formação de novas ligações por poli-condensação, e conseqüentemente, a resistência do gel aumenta e os tamanhos dos poros se tornam menores. Esta etapa de secagem leva à formação de um estado do gel que também é chamado de xerogel, o qual apresenta porosidade alta e uma área superficial grande. Dentre as grandes vantagens de se utilizar o processo sol gel para obtenção de materiais à base de TiO_2 com potencial aplicação em células solares, deve-se a rota química do processo ser econômica, quando comparado com outros métodos com o mesmo propósito, como também pela baixa temperatura de processamento em que podem ser sintetizados estes materiais e a pureza e homogeneidade que podem ser obtidas, no custo de processo e na emissão de poluentes, mostrando-se um método promissor para obtenção de filmes à base de TiO_2 (PENA, 2015).

3.4 Polímeros

Os polímeros são materiais que apesar de terem uma estrutura química específica podem assumir várias configurações diferentes e possuir propriedades distintas (ALMEIDA e SOUZA, 2015).

Os polímeros são formados pela combinação de um grande número de unidades de repetição (meros) com massa molar de 10^3 a 10^6 g/mol. As principais classes dos polímeros são constituídas de: C, H, O, F e N. O termo “polímero” significa muitos “meros”, unidades de formação de uma molécula longa.

Os materiais poliméricos se destacam pela sua liberdade de *design* e densidade baixa quando comparado com outros materiais, tais como cerâmica e metais.

Os polímeros são constituídos por moléculas orgânicas que basicamente consistem na ligação de átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio entre si para formar os mais diversos tipos possíveis de materiais.

Em um material polimérico pode-se destacar dois tipos de ligações químicas presentes: ligação primária e ligação secundária. A ligação primária está presente dentro da cadeia polimérica proporcionando a ligação entre os átomos da cadeia, por meio da interação entre os elétrons livres dos átomos em questão. As ligações primárias existentes são a covalente e a iônica. Já entre as moléculas poliméricas estão as ligações secundárias ou forças intermoleculares, mais fracas que as ligações primárias (ALMEIDA e SOUZA, 2015).

3.4.1 Poliuretano (PU)

Os poliuretanos são polímeros classificados como resinas plásticas de aplicação geral. São bastante versáteis possuindo alta resistência à abrasão, capacidade de formar polímeros celulares com ampla faixa de densidade e flexibilidade e resistência química a alguns produtos (WIEBECK e HARADA, 2005).

Ainda segundo WIEBECK e HARADA (2005) os poliuretanos são geralmente produzidos pela reação de poliadição, de um poliisocianato e um poliol ou outros reagentes (contendo dois ou mais grupos de hidrogênio reativos), mas também podem ser resultantes de policondensação (reação em etapa).

Na Figura 9, pode-se observar a cadeia química do poliuretano.

Figura 10 - Espectro FTIR do cateter venoso central não irradiado e irradiado

Fonte: HEILMAN, 2015.

3.5 Irradiação de polímeros

3.5.1 Radiação

As fontes de radiação podem ser naturais como os isótopos radioativos radônio e rádio ou artificiais como ^{90}Sr , ^{137}Cs e o ^{60}Co (radiação gama) e os aceleradores de elétrons (feixes de elétrons). Todas essas fontes transferem energia para os átomos do material irradiado. A principal fonte de radiação para fins de modificação de propriedades inclui os raios γ provenientes dos isótopos radioativos tais como ^{60}Co , feixes de elétrons a partir de aceleradores de elétrons e raios X convertidos a partir de feixes de elétrons (MAKUUCHI e CHENG, 2012).

Os raios gama, os feixes de elétrons e os raios X têm diferenças importantes, mas todos transferem energia para os átomos do material irradiado. Quando a energia é maior do que um elétron orbital particular, o elétron é ejetado e

o átomo é ionizado. Quando a energia não é alta o suficiente para a ionização, o elétron é levado para um nível de energia superior, resultando em excitação conforme mostrado na Figura 11. Segundo MAKUUCHI e CHENG (2012) o potencial de ionização para a maioria das moléculas é de 15 eV, enquanto as energias de irradiadores industriais variam de 100 a 1 MeV, então a ionização passa a ser o principal processo.

Figura 11 - Ionização e excitação

Fonte: MAKUUCHI e CHENG, 2012.

Os raios gama gerados pelo decaimento radioativo interagem com as moléculas da matéria por meio de elétrons secundários. A energia emitida pelos raios gama ionizam a matéria por três processos principais: efeito fotoelétrico, espalhamento Compton e a produção de pares. Com energia de 100 a 1 MeV o espalhamento Compton é o principal mecanismo de absorção em que um fóton incidente perde energia ejetando um elétron ao chocar-se com um átomo da matéria irradiada e o restante de sua energia é emitida como um novo fóton com energia menor (OLIVEIRA, 2014).

3.5.2 Interação da radiação com os polímeros

Segundo MAKUUCHI e CHENG (2012) a irradiação de materiais poliméricos consiste em submetê-los à radiação para obter modificações estruturais nos polímeros melhorando suas propriedades para fins industriais. As interações primárias de radiação ionizante com os polímeros produzem ionização, excitação,

estabilização de elétrons, neutralização de íons e radicais livres. As reações secundárias após a geração de radicais livres produz principalmente a retirada de hidrogênio, ligação dupla, recombinação (reticulação ou ramificação), cisão da cadeia, oxidação, enxerto (OLIVEIRA, 2014). Na Figura 12 são mostradas as possíveis reações da interação da radiação ionizante com um polímero.

Figura 12 - Reações de interação da radiação ionizante com o polímero. Processo primário (P = polímero, R = radical)

Fonte: MAKUUCHI e CHENG, 2012.

As diferentes respostas à radiação para diferentes polímeros são intrinsecamente relacionadas às estruturas químicas dos polímeros. Na Figura 13 são mostrados alguns exemplos de estruturas químicas que correspondem ao tipo de reticulação, degradação e polímeros resistentes à radiação. Os polímeros com mais átomos de hidrogênio em sua cadeia (PE) tendem a reticular com a radiação. Os polímeros com um grupo metila (polipropileno), di-substituições (polimetacrilato) e substituições por halogêneos (PTFE) sofreriam, mais provavelmente, degradação com a radiação. Os polímeros aromáticos com anéis de benzeno na cadeia (poliestireno e policarbonato) são geralmente resistentes à radiação.

Figura 13 - Exemplos de estruturas químicas de polímeros com diferentes respostas à radiação: polímero reticulável por radiação; degradação de polímeros por radiação e polímero resistente à radiação.

Polímero reticulável por radiação

Degradação de polímero por radiação

Polímero resistente a radiação

Fonte: MAKUUCHI e CHENG, 2012.

Outros resultados destas reações incluem a reticulação, em que as cadeias poliméricas são unidas formando uma rede tridimensional. Existem duas formas de ligações cruzadas, como pode-se observar na Figura 14.

Figura 14 - Formas de ligações cruzadas tipo H e tipo T

Fonte: OLIVEIRA, 2014.

Os radicais dos polímeros envolvidos na reticulação podem ser radicais secundários que são formados pela ruptura da cadeia lateral ligada à cadeia principal (tendência dos polímeros flexíveis). Também pode ser pela recombinação do radical secundário e radical primário formado pela cisão da cadeia principal (tendência dos polímeros rígidos).

Desta forma os materiais poliméricos passam a ser classificados em dois grupos, sendo eles reticulados ou degradados. Quando um polímero possui grupos vinil e cada átomo de carbono da cadeia principal ligado a pelo menos um átomo de hidrogênio, este terá maior tendência a reticular. Se o polímero apresenta carbonos quaternários em sua estrutura irá preferencialmente ter um comportamento de degradação. Quando a irradiação ocorre na presença de oxigênio até os polímeros com tendência para a reticulação podem sofrer alguma degradação com a presença do grupo carbonila (O'DONNELL e SANGSTER, 1970).

Na Figura 15 observa-se a ligação de um radical e um átomo de hidrogênio à cadeia de carbono classificando o material como reticulado (a) e dois radicais ligados ao carbono da cadeia principal que classifica o material como degradado (b).

Figura 15 - Classificação dos polímeros de acordo com a sua tendência em interagir com a radiação ionizante

(a) Reticulada

(b) Degradada

Fonte: OLIVEIRA, 2014.

A maioria dos polímeros quando irradiados na presença de oxigênio, tem uma tendência em promover a cisão mesmo àqueles materiais que reticulam em ambientes inertes.

Os mecanismos de degradação também envolvem a cisão da cadeia principal ou de grupos laterais da macromolécula podendo levar à reticulação e grupos oxigenados, reduzindo as propriedades do polímero (OLIVEIRA, 2014).

A degradação do polímero devido à radiação na presença de oxigênio favorece a formação de peróxidos que impedem a recombinação dos radicais livres nos extremos da cadeia.

As cadeias de polímero podem ser dissociadas ou reticuladas de acordo com as características das estruturas químicas, podendo tornar-se um material

frágil. Isto se dá em razão da combinação de cadeia aleatória e cisão de ligações cruzadas. Os polímeros também podem descolorir durante a irradiação dando ao produto uma coloração indesejável, mas o problema mais grave é a fragilização resultando em rachaduras e pontos de tensão. As propriedades físicas podem, em alguns casos, continuar a variar com o tempo após a irradiação (PARK e BRONZINO, 2003).

No presente estudo a radiação será utilizada para incorporação da prata no polímero do cateter venoso central para que assim, o cateter adquira um efeito antibacteriano. Nesta incorporação, o cateter previamente revestido com TiO_2 é imerso em solução de nanopartículas de prata e posteriormente exposto a radiação. O processo não produz reações químicas, uma vez que a dose utilizada não é suficiente para provocar alterações na estrutura do polímero, mas as partículas de Ag^+ ficam incorporadas nas cadeias poliméricas conforme mostrado na Figura 16.

Figura 16 - Incorporação da prata na cadeia polimérica pelo processo de irradiação

Fonte: adaptado de PIRES (2013).

Após a incorporação da prata nos cateteres de poliuretano, buscou-se confirmar a incorporação do titânio e da prata em sua superfície, uma vez que HEILMAN (2015) já identificou que a superfície do cateter apresenta bastonetes internamente (a) e concavidades externamente (b), que permitem alojar as bactérias para a formação de biofilme (Figura 17).

Figura 17 - Micrografia de cateteres não irradiados e sem revestimentos (a) internamente e (b) externamente

Fonte: HEILMAN, 2015.

3.6.1 Esterilização

Há registros de que os egípcios utilizavam sal, piche ou alcatrão como antissépticos no embalsamento de corpos entre 484 e 424 a.C. A fumaça originada da queima de produtos químicos também era utilizada com o propósito de desodorizar e desinfetar. Em 1860 *Pasteur* iniciou uma investigação microscópica do ar atmosférico e conseguiu provar que os microrganismos presentes no ar eram responsáveis pelas mudanças ocorridas em suas soluções estéreis. O fato colocou um fim à discussão a respeito da geração espontânea. Outra contribuição de *Pasteur* para a esterilização foi encontrar métodos mais efetivos com temperaturas mais elevadas que a de ebulição sendo, *Pasteur* e *Charles Chamberland*, responsáveis por desenvolver o primeiro esterilizador à pressão de vapor (LACHTERMACHER e RUDIN, 1994).

Entre 1867 a 1888 os agentes gasosos utilizados na desinfecção eram o ácido sulfúrico, cloro, ácido hidrocianico, oxigênio, ozônio e ácido nítrico. Após 1888 iniciou-se a desinfecção por formaldeído (OLIVEIRA, 2014).

Em 1933 começou-se a utilizar o esterilizador por pressão de vapor com medição da temperatura se tornando um processo mais confiável.

A partir da década de 60 surgiram os processos de esterilização por raios gama e feixes de elétrons.

A esterilização industrial utilizando a radiação trabalha com uma margem de segurança, sendo a dose de esterilização de 20 kGy a 25 kGy. Essas doses de radiação interferem diretamente nos aspectos microbiológicos dos produtos, isso porque a radiação ionizante quebra as moléculas de DNA dos microrganismos ocasionando sua morte (FILHO, 2012).

As doses de radiação gama em relação aos aspectos microbiológicos estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Aspectos microbiológicos relativos à radiação gama

Microrganismo	Dose letal (kGy)
Fungos	1 – 3
Bactérias Gram-negativos	2 - 5
Bactérias Gram-positivos	5 - 10
Bactérias anaeróbias	10 - 30
Vírus	10 - 50

Fonte: FILHO et al. 2012.

3.6.2 Bactéria Gram positivo e Gram negativo

No presente estudo foi utilizado como cepas o *Staphylococcus aureus* – Gram positivo e *Escherichia coli* – Gram negativo para teste de ação microbiológica e esterilização.

a) ***Staphylococcus aureus* – Gram positivo** - segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2007) o *Staphylococcus aureus* é considerado um patógeno humano oportunista e frequentemente está associado à infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar. As infecções mais comuns envolvem a pele (celulite, impetigo) e feridas em sítios diversos. Esta cepa é o agente que causa principalmente infecções na corrente sanguínea - relacionada a cateteres e infecções de pele e partes moles - mas é também um dos agentes mais frequentes de pneumonias associadas à ventilação mecânica (ANVISA, 2007). Algumas infecções por *S. aureus* são agudas e podem disseminar para diferentes

tecidos e provocar focos metastáticos. Episódios mais graves, como bacteremia, pneumonia, osteomielite, endocardite, miocardite, pericardite e meningite, também podem ocorrer. Em relação a virulência e resistência bacteriana, todos mostraram índices de mortalidade significativamente mais altos em pacientes que as desenvolve.

b) ***Escherichia coli* – Gram negativo**: segundo a ANVISA (2007) estão envolvidos em quase todas as infecções adquiridas em UTI, particularmente infecções respiratórias e infecções urinárias. São relatadas em muitos hospitais taxas de resistência elevada à quinolonas, beta-lactâmicos e aminoglicosídeos, em geral, por produção de beta-lactamases. Entre os grupos de *Gram negativos*, têm particular importância os agentes que produzem beta-lactamases de espectro ampliado, principalmente *Klebsiella spp* e *E.coli* - 40% a 50% e 10%, respectivamente - em cepas isoladas de hospitais brasileiros. São pacientes de risco para infecção ou colonização por bacilos *Gram-negativos* (ANVISA, 2007) aqueles com longa permanência hospitalar; uso prévio de antimicrobianos; internação em UTI; severidade das doenças de base e deficiência imunológica; queimaduras graves ou cirurgia longa; uso de procedimentos invasivos.

Nas Figuras 18 e 19 são mostradas as principais diferenças entre as bactérias *Gram* positivos e negativos. Percebe-se a parede celular mais espessa nas bactérias *Gram* positivos em comparação com as *Gram* negativos.

Figura 18 - Ilustração do espesso peptideoglicano de bactéria *Gram* positivo - parede celular

Fonte: CONCEIÇÃO, 2010.

Figura 19 - Ilustração do espesso peptideoglicano de bactéria *Gram* negativo- parede celular

Fonte: CONCEIÇÃO, 2010.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os materiais utilizados neste trabalho foram o Cateter Venoso Central (CVC) de poliuretano, soluções aquosas de nanopartícula de prata e o óxido de titânio puro como revestimento, sintetizado pelo processo sol gel.

4.1.1 Cateter de Poliuretano

Os cateteres de poliuretano são aqueles que permanecem mais tempo em contato com a veia; a superfície lisa do poliuretano minimiza a adesão bacteriana, a formação de biofilme e, conseqüentemente, de infecções na corrente sanguínea relacionada ao seu uso, além disso, permite a mobilidade do paciente quando inserido em articulações. As principais características do poliuretano são: dureza, resistência química e baixa trombogenicidade. Dentre as vantagens, possui menor risco para flebite e infiltração do que o politetrafluoretileno (PTFE). O fluxo é maior do que em cateteres de PTFE (HEILMAN, 2015).

O cateter utilizado neste trabalho foi o *Pellethane* 2363-65D, termoplástico poliuretano elastômero (TPU). Os elastômeros de poliuretano são materiais de acabamento, desenhos e construção únicos que combinam as diversas vantagens de plásticos rígidos, metais e cerâmicas com a elasticidade da borracha e são materiais muito versáteis.

4.1.2 Nanopartícula de Prata

Neste trabalho foram utilizadas nanopartículas de prata da TNS, *Competence in Nanotechnonology*, NpAg_925, produto antimicrobiano monocomponente a base de nanotecnologia; como emulsão aquosa; atóxica;

conteúdo sólido de aproximadamente 1000 ppm; cor marrom amarelada; pH de 4,0 – 5,0; densidade a 25°C de 1,0 g/cm³; tamanho médio das partículas de 15 nm; comprimento de onda de 400 a 410 nm de maior absorção da prata, elevada efetividade antibacteriana comprovada pela norma JIS Z 2801, segundo dados informados pelo fabricante.

4.2 Preparação das amostras

4.2.1 Revestimento de óxido de titânio (TiO₂) no CVC

Primeiramente foi obtido o TiO₂ puro pelo método sol gel. Esta obtenção do TiO₂ foi realizada em um balão reacional de 250 mL, com a adição de 100 mL de H₂O e 1,5 mL de HNO₃ (65% v/v). A solução foi mantida a 50°C, com posterior agitação vigorosa e com adição lenta de 16,5 mL de tetraisopropóxido de titânio IV, posteriormente esse sistema foi mantido em agitação vigorosa por 12 horas e concentrado em estufa a 80°C (HEWER, 2010). A solução de titânio formada apresentou uma concentração de 0,52 mol/L.

Para a lavagem dos cateteres foi usada a solução surfactante de Triton X-100 (C₁₄H₂₂O(C₂H₄O)_n) (2% v/v). Os cateteres foram colocados na solução por 20 minutos em ultrassom, depois foram enxaguados com água deionizada e secos a 50°C por 12 horas.

Posteriormente, montou-se um sistema mostrado nas Figuras 20 e 21, usando seis cateteres por vez e uma proveta com solução de titânio. Os cateteres foram lentamente submergidos na solução de titânio, onde permaneceram durante 15 minutos para impregnação das partículas de titânio. Após a impregnação do titânio os cateteres foram colocados em uma estufa a 50°C onde foram secos por 2 horas. Os processos de impregnação e secagem foram repetidos mais uma vez.

O processo de incorporação do titânio foi realizado no Departamento de Engenharia Química, POLI-USP.

Figura 20 - Sistema com os cateteres e proveta prontos para a incorporação

Fonte: autor da dissertação.

Figura 21 - Cateteres submergidos na solução de titânio para a incorporação das partículas de Ti

Fonte: autor da dissertação.

4.2.2 Incorporação da nanopartícula de prata

Posteriormente à incorporação do titânio os CVC's foram preparados para a incorporação da prata. Para tanto, preparou-se uma solução com 200 ppm de nanopartículas de Ag^+ em um balão volumétrico e outra solução com 300 ppm em outro balão volumétrico. A definição destas concentrações para uso nos cateteres foi sugerida na tese de HEILMAN (2015) que já havia testado outras concentrações. Cada amostra foi cortada em pedaços de 5 cm e pesada. Posteriormente foi colocada em um balão volumétrico previamente preparado com a respectiva solução de prata (Figura 22). Os balões foram então embalados em folha de alumínio como proteção para a prata não oxidar e em seguida foram irradiados.

Figura 22 - Preparação dos cateteres na solução de prata para irradiação

Fonte: autor da dissertação.

4.2.3 Irradiação dos CVC's revestidos com titânio e prata

As amostras de CVC revestidos com óxido de titânio foram impregnadas com nanopartículas de prata por meio do processo de irradiação com dose de 25 kGy e com taxa de dose de 1,03 kGy/h no irradiador “Gammacell 220” (Figura 23) do Centro de Tecnologias das Radiações do IPEN–CNEN/SP. Posteriormente estas amostras de CVC sem revestimento e revestidos com nanopartículas de prata foram submetidas à dose de 25 kGy para esterilização, usando o irradiador “Gammacell 220”.

Figura 23 - Irradiador “Gammacell 220” - IPEN-CNEN/SP

Fonte: autor da dissertação.

4.3 Métodos

4.3.1 Caracterização das amostras

4.3.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura é um tipo de microscópio capaz de produzir imagens de alta resolução da superfície da amostra. Micrografias de MEV têm uma aparência tridimensional característica e são úteis para avaliar a estrutura superficial de uma amostra. Em materiais, esta técnica permite avaliar a microestrutura e correlacioná-la com propriedades e defeitos e assim vislumbrar possíveis aplicações. A micrografia é produzida coletando-se os elétrons secundários emitidos da superfície excitada da amostra por meio de um cintilador e então reproduzindo a imagem do cintilador em um tubo de raios catódicos. O teste produz imagens com uma profundidade de campo bastante alta, podendo-se analisar amostras relativamente espessas com uma preparação mínima (ALMEIDA e SOUZA, 2015). Na Figura 24 é mostrado um diagrama esquemático de funcionamento de um equipamento de MEV.

Figura 24 - Diagrama esquemático de um equipamento de MEV

Fonte: ALMEIDA e SOUZA, 2015.

Os testes foram executados em um microscópio eletrônico de varredura da marca Jeol modelo JMS 6510, no laboratório de Caracterização e Processamento de Materiais da Universidade Presbiteriana Mackenzie/SP. Foram analisadas amostras de cateter incorporados com titânio e com titânio e prata.

4.3.1.2 Análise por ativação neutrônica

O método permite identificar os elementos químicos presentes na matriz e determinar as quantidades dos mesmos. Ele consiste em irradiar com um fluxo de nêutrons, uma pequena massa de matriz (alguns microgramas até um ou dois gramas). No fluxo de nêutrons, se irradia uma quantidade conhecida do elemento que se deseja analisar na matriz. Como consequência da reação nuclear entre os nêutrons e os átomos do elemento a ser analisado formam-se um ou mais isótopos radioativos daquele elemento na matriz e no padrão de massa conhecida. Para um mesmo fluxo de nêutrons e para o mesmo tempo de irradiação, a atividade do radioisótopo do elemento em estudo será proporcional à massa irradiada; como as atividades da amostra e do padrão podem ser medidas após a irradiação, e como a massa do padrão é conhecida, determina-se por simples proporção, a massa do elemento que está sendo analisado (LIMA, 1967). Assim sendo, foi possível determinar a quantidade de prata incorporada no CVC.

Os testes foram realizados no Centro do Reator de Pesquisas (CRPq) no IPEN-CNEN/SP com amostras de CVC com Ti e Ag (200 ppm e 300 ppm) para confirmação da concentração de prata incorporada ao CVC após a irradiação.

As amostras foram divididas em CVC + Ti + Ag (200 ppm) e CVC + Ti + Ag (300 ppm). Cada amostra foi cortada na metade resultando: CVC + Ti + Ag (200 ppm) com 2,6 cm e massa de 0,03102 g e CVC + Ti + Ag (300 ppm) com 2,5 cm e massa de 0,02967 g.

Dois padrões de Ag (25 µg cada um) foram irradiados junto às amostras de CVC. Também foi usado um material de referência "Montana Soil" para constatar a qualidade dos padrões.

As amostras de CVC, os padrões e o material de referência foram irradiados no reator IEA R1 e após 10 dias de decaimento as atividades das

amostras foram medidas, utilizando um detector da Canberra modelo GX2020 de Ge hiperpuro.

4.3.1.3 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia de absorção por transformada de Fourier é utilizada para análise de espectros moleculares na faixa do infravermelho. O espectrômetro por transformada de Fourier não é limitado, como os espectrômetros de prisma e de grade, pela presença de fendas estreitas que restringem tanto a irradiância como o intervalo de comprimentos de onda disponíveis. Além disto, a resolução obtida com esta técnica é muito alta, limitada apenas pela largura da janela da entrada (x_w) e pela região de comprimentos de onda em análise (ALCÂNTARA JÚNIOR, 2002).

O teste foi utilizado para identificação de grupos funcionais e observação de conformação e estrutura das macromoléculas.

Os ensaios de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foram realizados no espectrômetro marca *Thermo Nicolet Nexus 400* (Figura 25), com utilização de reflectância direta das amostras, no laboratório do Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais (CCTM) do IPEN-CNEN/SP.

Figura 25- Equipamento utilizado para o ensaio de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Fonte: autor da dissertação.

4.3.1.4 Teste de ação antibacteriana por macro diluição

Para análise da ação antibacteriana foi utilizada a Norma M7-A6 - Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico conforme a NCLLS (*National Committee on Clinical Laboratory Standards Clinical and Laboratory Standards Institute*), o CLSI e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (NCLLS, 2003), para macro diluição em caldo. Foram utilizadas as cepas *Staphylococcus aureus* (FMT 232017) – Gram positivo e *Escherichia coli* (FMT 152017) – Gram negativo. O teste foi realizado no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Aplicada da Universidade Presbiteriana Mackenzie/SP.

O teste comparou a capacidade de inibir a formação de colônias entre o cateter padrão e os cateteres com incorporação de titânio e com incorporação de titânio e prata nas concentrações de 200 ppm e 300 ppm de prata em solução e em diferentes tempos de incubação. Todos os cateteres tinham sido previamente esterilizados pelo processo de irradiação.

Para as análises, os cateteres foram divididos em lotes designados pelas letras: A, B, C e D (Figura 26). Em cada lote havia 3 cateteres previamente preparados e esterilizados que posteriormente foram expostos às bactérias em quatro tempos diferentes, a saber:

- lote 1A, 2A, 3A e 4A: CVC padrão, tempo 24 horas;
- lote 1B, 2B, 3B e 4B: CVC + Ti, tempo 48 horas;
- lote 1C, 2C, 3C e 4C: CVC + Ti + Ag 200 ppm, tempo 72 h;
- lote 1D, 2D, 3D e 4D: CVC + Ti + Ag 200 ppm, tempo 96 horas.

Figura 26 - Lotes com cateteres preparados para teste de ação antibacteriana

Fonte: autor da dissertação.

Lotes iguais foram preparados para as bactérias *Gram* positivos e *Gram* negativos. Os tempos foram escolhidos por adequação à norma (NCLLS, 2003).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Massa (em gramas) dos cateteres depois da impregnação de titânio e prata

O primeiro processo para verificação de que a prata foi incorporada ao polímero pelo processo de irradiação foi a identificação da prata pela alteração da massa do cateter após os processos de impregnação do titânio e incorporação da prata.

Utilizou para a pesagem: 48 cateteres sem incorporação nenhuma e não irradiados, 48 cateteres com titânio sem irradiação, 48 cateteres com titânio e prata (200 ppm) e 48 cateteres com titânio e prata (300 ppm). Após a irradiação eles foram pesados e então calculou-se o valor médio de cada grupo. Os valores médios das massas resultantes estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de massa média determinados nos cateteres após a impregnação de titânio e irradiação para incorporação de prata

	CVC	CVC +Ti	CVC + Ti + Ag (200 ppm)	CVC + Ti + Ag (300 ppm)
Massa média	0,0583	0,0612	0,0831	0,0898

Fonte: autor da dissertação.

Observou-se que o titânio aumentou em 0,05% a massa do cateter original, enquanto o cateter com Ti e Ag com 200 ppm aumentou 0,3% e o cateter com titânio e prata com 300 ppm aumentou 0,36%.

Considerando-se a massa molar do titânio de 47,867 g/mol e da prata de 107,8682 g/mol, a prata é 2,3 vezes mais pesada que o titânio justificando esta diferença de 35% a mais na massa quando a prata (200 ppm) foi incorporada.

Os valores médios encontrados na massa dos cateteres apresentaram os seguintes desvios médios e desvios padrões (DP) (Tabela 3).

Tabela 3 - Desvio médio e desvio padrão dos valores de massa (g) dos cateteres

Cateter	Desvio médio	Desvio padrão
CVC sem incorporação	0,043611	$\pm 0,05$
CVC +Ti	0,045563	$\pm 0,05$
CVC + Ti + Ag (200 ppm)	0,038327	$\pm 0,06$
CVC + Ti + Ag (300 ppm)	0,052710	$\pm 0,06$

Fonte: autor da dissertação.

Observou-se que houve pouca variação dos valores nas massas, assim cada pedaço de cateter apresentou a massa após a incorporação próxima à média da sua referência correspondente, com variação de $\pm 0,05$ a $\pm 0,06$. Com isto cada pedaço de cateter pode ser representativo do seu grupo.

5.2 Aspecto visual da incorporação do titânio e da prata

Na Figura 27 são mostradas as mudanças no aspecto visual dos cateteres com a incorporação do titânio e com a impregnação das nanopartículas de prata nas duas concentrações utilizadas.

Figura 27 - Mudança visual dos cateteres a partir dos processos de incorporação de titânio e prata

Fonte: autor da dissertação.

Na Figura 27a observa-se o cateter antes das incorporações. A Figura 27b corresponde ao CVC com revestimento de Ti onde se observou o brilho correspondente ao metal. Nas Figuras 27c e 27d são mostradas as impregnações com nanopartícula de prata de 200 ppm e de 300 ppm respectivamente. Observou-se pouca variação na cor do cateter na impregnação de nanopartícula de prata de 200 ppm. Já na impregnação com nanopartículas de prata de 300 ppm o cateter apresentou uma coloração bem mais escura. Assim, visualmente pôde-se comprovar a impregnação das partículas de prata no cateter de poliuretano pelo processo de irradiação.

5.3 Análise por ativação neutrônica

Os testes de análise por ativação neutrônica utilizados para confirmação da concentração adquirida após a irradiação apresentou os seguintes resultados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados da análise de concentração de prata em $\mu\text{g/g}$

Alíquota	Média* $\pm$ DP
CVC + Ti + Ag (200 ppm)	229,8 $\pm$ 1,3
CVC + Ti + Ag (300 ppm)	596,0 $\pm$ 3,3

*Média dos resultados obtidos usando 2 padrões de Ag^+ , foto pico de 658 keV.

Fonte: autor da dissertação.

Nos resultados apresentados na Tabela 4 percebe-se que em ambos os casos a prata se acumulou além da concentração da solução em que estava imersa a amostra de CVC para irradiação. Na solução de 300 ppm a prata acumulada é quase o dobro da concentração da solução. Este fato aconteceu uma vez que a prata disponível na solução foi atraída pelo titânio, revestindo-o durante a irradiação. Assim, usando o fator de conversão, as concentrações reais de prata nos CVC's foram de aproximadamente 230 ppm e 600 ppm, respectivamente. Um resultado de incorporação além da concentração da solução era esperado quando observada a cor adquirida pelo cateter após a irradiação.

Acredita-se que como na incorporação do titânio não formou uma camada homogênea, conforme resultados observados nos testes de MEV, mas sim observou-se pontos irregulares de maior concentração, assim sendo, a prata pode ter se acumulado em pontos específicos provocando este aumento de concentração. Esta distribuição homogênea de prata na superfície do cateter seria importante para a aderência da prata de forma regular na sua superfície o que aumentaria o efeito antibacteriano esperado.

5.4 Análise da espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier

Na Figura 28 é mostrado o espectro de absorção no infravermelho por transformada de Fourier das amostras de cateter irradiado em diferentes concentrações de prata. Assim foi possível avaliar se houve ou não alterações nos grupos funcionais do polímero o que poderia provocar uma perda de funções do cateter como maleabilidade e resistência.

Figura 28 – Espectros de amostras do CVC com 200 ppm e 300 ppm irradiadas

Fonte: autor da dissertação.

De acordo com a Figura 28 observou-se apenas uma pequena alteração no início da análise proveniente da perda de água, mas quando os resultados do CVC irradiado são comparados com os resultados do CVC não irradiado, não há alteração nos grupos funcionais. Estes dados nos dizem que não houve alteração na estrutura do polímero do cateter, conservando assim suas características funcionais e estruturais após a irradiação e incorporação da prata. Este resultado mostrado na Figura 18 está de acordo com a literatura (HEILMAN, 2015) observando-se que a irradiação nesta dose não altera os grupos funcionais do polímero.

5.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

5.5.1 Identificação do titânio

Na Figura 29 é mostrado o gráfico de espectroscopia por energia dispersiva (EDS) da amostra de cateter (CVC) com titânio em sua superfície.

Figura 29 - Gráfico de EDS das amostras de CVC com titânio

Fonte: autor da dissertação.

Na Figura 29 observou-se a presença do titânio e da prata na superfície do cateter, porém a baixa concentração do titânio e a sua aderência de forma heterogênea na superfície do CVC dificultou a incorporação da prata.

Encontrou-se um percentual de 10,7% em massa do titânio incorporado à superfície do polímero, conforme apresentado na Tabela 5. Considera-se que este valor sofreu variações dependendo do pedaço de amostra analisado, uma vez que a distribuição do titânio deu-se de forma não homogênea ao longo da superfície do cateter.

Tabela 5 - Resultado da quantidade de titânio encontrado no polímero

Elemento	Contagens líquidas	Massa %	Átomo %
C K	22011	57,3	69,3
O K	6838	29,6	26,9
Ti K	18803	10,7	3,2
Ti L	0	---	---
Mn K	309	0,3	0,1
Mn L	0	---	---
Cu K	1274	2,1	0,5
Cu L	548	---	---
Total		100,0	100,0

Fonte: autor da dissertação.

As Figuras 30, 31 e 32 mostraram que a distribuição do titânio na superfície não ocorreu de forma homogênea.

Figura 30 - Micrografia de CVC com titânio

Fonte: autor da dissertação.

Figura 31 - Micrografia de CVC com titânio

Fonte: autor da dissertação.

Figura 32 - Micrografia de CVC com titânio

Fonte: autor da dissertação.

O método sol gel utilizado para a incorporação do titânio apresentou falhas e o titânio teve concentrações diferentes ao longo do polímero, dificultando a identificação correta da sua concentração.

Nas Figuras 33 e 34 a cor azul identifica o titânio distribuído pela superfície do cateter.

Figura 33 - Micrografia de CVC com titânio

Fonte: autor da dissertação.

Figura 34 - Micrografia de CVC com titânio

Fonte: autor da dissertação.

Observou-se que mesmo o titânio estando disperso em praticamente toda a superfície do polímero, houve pontos de concentração alta de titânio e pontos de concentração baixa de titânio.

5.5.2 Identificação da prata

Na Figura 35 é mostrada a presença do titânio e da prata na superfície do cateter, porém a concentração baixa de titânio e a sua aderência de forma heterogênea na superfície do CVC dificultou a formação da liga Ti/Ag.

Figura 35 - Micrografia de CVC com titânio e prata

Fonte: autor da dissertação.

Como a deposição da prata depende da concentração de titânio, a sua identificação só foi possível onde havia titânio impregnado na superfície do polímero em maior concentração.

Na Figura 36 são mostrados os gráficos de espectroscopia por energia dispersiva (EDS) das amostras de CVC com titânio e prata.

Figura 36 - Gráfico de EDS das amostras de CVC com titânio e prata

Fonte: autor da dissertação.

Na Figura 36 observou-se a presença do titânio e da prata na superfície do cateter, porém a baixa concentração do titânio e a sua aderência de forma heterogênea na superfície dificultou a incorporação da prata o que foi comprovado pela micrografia mostrada na Figura 37.

Na micrografia do CVC com titânio e prata mostrada na Figura 37 observou-se a distribuição de titânio (cor amarela) e a distribuição de prata (cor branca) de forma longitudinal na superfície do cateter.

Figura 37 - Micrografia do CVC mostrando a distribuição de titânio e de prata ao longo da superfície do cateter

Fonte: autor da dissertação.

De acordo com a Figura 37 observou-se que onde houve maior concentração de titânio, houve consequentemente uma maior concentração de prata. Assim sendo, nas menores concentrações de titânio observadas na superfície analisada do CVC não se observou a incorporação da prata, deixando partes da superfície do polímero sem o revestimento de prata. Então, pode-se dizer que a incorporação da prata no CVC é diretamente dependente da concentração de titânio e que para uma boa incorporação de prata necessita-se de uma boa distribuição do titânio na superfície do polímero.

5.6 Teste de ação antibacteriana

O teste de ação antibacteriana foi realizado em duas etapas:

- Teste de procedimento para ajustes da metodologia.
- Teste de macrodiluição para crescimento ou não de colônias de bactérias e análise de dados.

5.6.1 Teste de procedimento para ajustes da metodologia

Para o teste de ação antibacteriana primeiramente foi feito um teste do procedimento onde foram colocados um cateter de cada lote dentro do tubo de ensaio com as respectivas bactérias.

Foram utilizados 16 tubos de ensaio para cada bactéria sendo 32 tubos no total mais um tubo padrão com o meio de cultura (Figura 38) para avaliar a esterilidade do meio de cultura.

Figura 38 - Cateteres imersos no meio de cultura para exposição às bactérias

Fonte: autor da dissertação.

Os cateteres ficaram expostos ao meio de cultura e às bactérias por 24 horas. Depois foi retirada uma amostra de cada tubo de final A (cateter padrão) que

posteriormente foi colocada em uma placa de Petri onde avaliou-se a formação das colônias (Figura 39).

Figura 39 - Teste de procedimento para análise da formação de colônias

Fonte: autor da dissertação.

Após o teste verificou-se uma grande formação de colônias, então ajustou-se a concentração de bactérias para uma melhor avaliação e contagem das colônias formadas. Assim sendo, os testes foram iniciados.

5.6.2 Teste de macrodiluição para crescimento ou não de colônias de bactérias e análise de dados

Para a análise de sensibilidade microbiana foram usadas as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os cateteres foram colocados em tubos de ensaio conforme mostrado na Figura 40.

Figura 40 - Identificação dos tubos de ensaio por lote, bactéria e tempo de incubação

Fonte: autor da dissertação.

Como havia 3 cateteres de cada lote, foram feitos 3 experimentos independentes.

Em cada tudo foi adicionado 7,2 mL de meio *Brain Heart Infusion*, apropriado para o crescimento dos dois tipos de microrganismos. Esse volume foi calculado para que o cateter ficasse totalmente coberto pela solução.

A quantidade de bactérias inoculadas em cada tudo foi calculada a partir da escala 0,5 *McFarland* que corresponde a aproximadamente 1.10^8 unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL). A partir desse tubo foi feita uma diluição de 1:100, obtendo-se assim uma solução de 1.10^6 UFC/mL, 0,8 mL dessa solução foi adicionada em cada tudo de ensaio, portanto, o volume final em cada tudo foi de 8 mL e 1.10^4 UFC/mL.

Os tubos foram deixados em estufa a uma temperatura de 37°C durante 24 horas, após esse período foi retirada uma amostra de todos os tubos com final A (1A, 2A, 3A e 4A) com auxílio de alça bacteriológica de 10 µL e inoculada em placa de Petri com meio de cultura agar nutriente para *S. aureus* e *E. Coli*. Posteriormente, as placas e os tubos foram incubados em estufa novamente.

Após 48 horas de incubação o procedimento descrito anteriormente foi feito com os tubos de final B, em 72 horas de incubação repetiu-se com os tubos de final C e após 96 horas de incubação houve outra repetição com os tubos de final D.

Nos tubos denominados controle, onde havia somente meio de cultura, não foi observado crescimento bacteriano mostrando que o meio era estéril. Este crescimento bacteriano foi observado pela turvação do meio de cultura que passou a adquirir coloração amarelo cristalino característico dos demais tubos, conforme mostrado nas Figuras 41 e 42.

Foi possível observar nos três experimentos que em todos os tubos houve crescimento intenso das bactérias *S. Aureus* e *E. Coli*. resultado que foi confirmado nas placas de Petri mostrado na Figura 43.

Figura 41 - Tubos de ensaio com cateteres para observação do crescimento de colônias de bactérias

Fonte: autor da dissertação.

Figura 42 - Observação do crescimento bacteriano pela turvação da cor do meio de cultura

Fonte: autor da dissertação.

Mais dois experimentos foram feitos para confirmação dos resultados. Nestes experimentos uma amostra do caldo de diluição foi retirada, após o tempo determinado de incubação e transferida para a placa de Petri a fim de se observar o crescimento ou não das colônias. Nas Figuras 43 a 48 é mostrado o crescimento bacteriano nos três experimentos realizados.

1º Experimento - 26 de março de 2018

Figura 43 - Análise da formação de colônias para a bactéria *E. coli* (primeiro teste)

Fonte: autor da dissertação.

Figura 44 - Análise da formação de colônias para a bactéria *S. Aureus* (primeiro teste)

Fonte: autor da dissertação.

2º Experimento – 16 de abril de 2018

Figura 45 - Análise da formação de colônias para a bactéria *E. coli* (segundo teste)

Fonte: autor da dissertação.

Figura 46 - Análise da formação de colônias para a bactéria *S. Aureus* (segundo teste)

Fonte: autor da dissertação.

3º Experimento – 23 de abril de 2018

Figura 47 - Análise da formação de colônias para a bactéria *E. coli* (terceiro teste)

Fonte: autor da dissertação.

Figura 48 - Análise da formação de colônias para a bactéria *S. Aureus* (terceiro teste)

Fonte: autor da dissertação.

Observou-se nas Figuras 43 a 48 que não houve diferenças entre as colônias formadas, ou seja, todos os cateteres tiveram a mesma pré-disposição para formação de colônias, não apresentando a ação antibacteriana esperada já que formou um excesso de colônias, o que prejudicou a leitura dos dados.

A coloração roxa nas placas de Petri deu-se devido ao uso do meio de cultura McConkey que tem esta cor característica.

Após os testes foi calculada a curva padrão do crescimento das bactérias, para isso fez-se a leitura em um espectrômetro de absorção com absorbância (abs) a 625 nm em cada tubo de ensaio. Do tubo de controle uma alíquota de caldo foi diluída e seu valor foi lido no espectrômetro. Com isto foi possível identificar a quantidade de bactérias em cada tudo de ensaio. Os valores estão apresentados nas Tabelas 6 e 7 bem como o número de bactérias. Após relacionou-se a quantidade de bactérias no controle com a absorbância. Os dados então foram plotados a partir da equação da reta (Figuras 49 e 50). Vale ressaltar que foi feita uma leitura para cada bactéria.

Tabela 6 - Curva padrão da formação de bactérias após o teste antibacteriano para a bactéria *E. coli*

Curva Padrão			
	Nº bactérias	Nº bactérias (10^8)	abs
Tubo Controle	875000000	8,75	1,45
1ª diluição	725000000	7,25	0,97
2ª diluição	550000000	5,50	0,74
3ª diluição	250000000	2,50	0,45
4ª diluição	175000000	1,75	0,25

Fonte: autor da dissertação.

No tubo de controle inicialmente com $8,75 \cdot 10^8$ bactérias obteve-se a absorbância de 1,45, após a leitura o caldo do tubo de controle foi novamente diluído fazendo-se a escala de absorbância. Após, fez-se então o alinhamento da escala mediante a curva de calibração, ou seja quantidade de bactéria por absorbância.

Figura 49 - Leitura da quantidade de bactérias nos tubos de ensaio por absorbância para a bactéria *E. coli*

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 7 - Curva padrão da formação de bactérias após o teste antibacteriano para a bactéria *S. aureus*

Curva Padrão			
	Nº bactérias	Nº bactérias (10 ⁸)	abs
Tubo Controle	750000000	7,5	1,160
1ª diluição	550000000	5,5	0,668
2ª diluição	450000000	4,5	0,339
3ª diluição	275000000	2,75	0,173

Fonte: autor da dissertação.

Observou-se que os valores de absorbância para a bactéria *S. aureus* são menores que os valores apresentados pela bactéria *E. coli*, ou seja, houve uma menor formação de colônias das bactérias Gram positivos em relação às Gram negativos.

Figura 50 - Leitura da quantidade de bactérias nos tubos de ensaio por absorbância para a *S. aureus*

Fonte: autor da dissertação.

Na Figura 51 pôde-se comparar o aumento da concentração das bactérias por meio dos valores da absorbância e das concentrações de acordo com as diluições realizadas.

Figura 51 - Comparativo do crescimento das bactérias *S. aureus* e *E. coli*

Fonte: autor da dissertação.

De acordo com a Figura 51 observou-se que a bactéria *S. aureus* inicia com uma concentração menor no momento da primeira diluição, mas a partir da terceira diluição sua concentração passa a ser maior do que a concentração da bactéria *E. coli*. Entre a terceira e quarta diluição as bactérias apresentaram o mesmo valor de concentração. Percebeu-se que ao longo do tempo a bactéria *S. aureus* é mais resistente que a bactéria *E. coli*.

Na Figura 52 é mostrada a concentração da bactéria *S. aureus* por cateter. No início, todos os cateteres foram expostos a uma concentração de bactérias igual a 1.10^8 UFC/mL, o valor final da concentração de bactérias corresponde a média dos valores encontrados nos três experimentos após o período de incubação.

Figura 52 - Concentração de bactérias *S. aureus* por cateter

Fonte: autor da dissertação.

Observou-se que embora o cateter que foi revestido com titânio e prata com 300 ppm tenha apresentado um valor menor que o valor do CVC padrão, a diferença foi insignificante (2,31% de redução). Este mesmo cateter também apresentou um resultado levemente melhor em comparação com o CVC com titânio e prata com 200 ppm, mas também o valor foi insignificante (1,03% de redução). O cateter revestido com titânio teve o maior aumento de bactérias.

Na Figura 53 observou-se o comportamento do crescimento das bactérias *E. coli* por cateter. Assim como nas bactérias *S. aureus* no início, todos os cateteres foram expostos a uma concentração de bactérias igual a $1 \cdot 10^8$ UFC/mL e o valor final da concentração de bactérias corresponde a média dos valores encontrados nos três experimentos após o período de incubação.

Figura 53 - Concentração de bactérias *E. coli* por cateter

Fonte: autor da dissertação.

De acordo com a Figura 53 para a bactéria *E. coli* não houve nenhum valor menor de concentração nos cateteres revestidos com titânio e prata em comparação com o cateter padrão (sem revestimentos).

Embora a bactéria *S. aureus* tenha se apresentado mais resistente ao longo do tempo em comparação à bactéria *E. coli* (Figura 51), no início do experimento os revestimentos conseguiram uma redução, ainda que irrelevante, da bactéria *S. aureus* em comparação com o cateter sem revestimento e não apresentou nenhuma ação sobre as bactérias *E. coli*.

De acordo com a literatura a prata e o titânio apresentariam uma ação antibacteriana, porém os valores finais de concentração de bactérias maiores que o valor inicial mostraram que os cateteres não apresentaram ação antibacteriana.

6 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a incorporação da prata pelo processo de irradiação é possível e que este não afeta a estrutura do polímero, este resultado foi comprovado pela espectroscopia de absorção por infravermelho por transformada de Fourier. Este fato é importante para manter as características do CVC e principalmente a correta inserção no corpo do paciente.

Observou-se que o método sol gel apresentou falhas na deposição do titânio na superfície do CVC, uma vez que a deposição foi heterogênea e quase inexistente em alguns pontos do cateter, o que pode ter dificultado a incorporação da prata no cateter de maneira homogênea.

As micrografias obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram a dependência da incorporação da prata no cateter em relação à concentração de titânio. Onde a concentração do titânio foi maior e a sua deposição foi mais homogênea observou-se uma maior concentração de prata incorporada no cateter. Assim, as falhas apresentadas na deposição do titânio provocaram, consequentemente, as falhas na deposição da prata.

Já a análise por ativação neutrônica apresentou uma alta concentração de prata nos cateteres, o que também foi constatado pela alteração da massa do cateter quando comparado o antes e depois da incorporação e pela observação visual. Estas diferenças entre os testes podem ter acontecido uma vez que, a incorporação do titânio nos cateteres foi feita em diferentes lotes, assim pode ter ocorrido alterações na forma de preparação de cada um dos lotes como a limpeza dos cateteres, por exemplo. A deposição do titânio mais concentrada em alguns pontos, fez com que a prata também se acumulasse em pontos específicos, apresentando variações na concentração da prata na superfície do cateter.

Os testes de ação antibacteriana tiveram resultados inconclusivos, uma vez que os cateteres revestidos não apresentaram a ação antibacteriana esperada.

Acredita-se que estes resultados tenham se dado por várias variáveis entre elas, destacam-se:

- o processo de incorporação do titânio: acredita-se que o melhor método para incorporar o titânio no cateter seria por meio de um processo contínuo onde o corpo do cateter fosse banhado pela solução de titânio em um processo ininterrupto. Para isso seria necessário que todo o cateter estivesse em uma única medida, como um fio, porém os cateteres usados na pesquisa foram de refugo, assim já vinham em pedaços o que necessitou de adaptações no processo, para isso utilizou-se um sistema de incorporação específico. O polímero de formato cilíndrico em pequenos pedaços provocou um acúmulo de titânio de forma irregular na sua superfície e dentro do cateter em suas pontas. Mesmo com os cateteres estando limpos, o manuseio para colocá-los no sistema de imersão de solução de titânio pode ter deixado pontos de gordura que pode ter provocado a deposição irregular. Ainda sobre a deposição irregular do titânio pode-se dizer que a solução usada para limpá-los pode não ter agido em toda a sujeira e/ou gordura ao qual ele foi exposto durante o processo de produção, provocando assim pontos de baixa impregnação.

- Manuseio dos cateteres: após a incorporação da prata os cateteres ficaram prontos por um longo período de tempo à espera da liberação do laboratório de análises biológicas. Durante este período, os cateteres aderiram à superfície da embalagem que os continha, necessitando de uma certa fricção para liberá-los da embalagem. Como, tanto o titânio quanto a prata estavam apenas incorporados à superfície, pequenas trações mecânicas podem ter sido suficientes para deslocar a prata e o titânio da superfície deixando pontos com baixa concentração.

- Atividade redutora da prata: não foi testada a atividade de redução dos íons de prata que formam os átomos de prata coloidal que possuem a atividade antibacteriana nos cateteres antes do teste antibacteriano. Como os cateteres ficaram um longo período de tempo prontos à espera dos testes esta atividade da prata pode ter sido diminuída.

- Talvez o fator mais importante para os resultados tenha sido a metodologia empregada nos testes de ação antibacteriana. Poucos estudos falam sobre métodos de análise para este tipo de material, a maioria dos trabalhos encontrados sobre teste de análise antibacteriana da prata são realizados em materiais planos, sendo o teste por macrodiluição o mais indicado para materiais

cilíndricos, já que o cateter precisa ficar imerso na solução. Porém, esta técnica apresentou alguns problemas, pois quando se coloca uma bactéria dentro de um meio de cultura ele fará com que as bactérias proliferem neste meio assim, era esperado o aumento no número de bactérias nos tubos de ensaio onde estavam os CVC's já que não se sabe até qual concentração a prata conseguiria agir de forma eficaz. E assim, não se sabe se a concentração utilizada no estudo seria suficiente para controlar o crescimento das colônias. Consequentemente, este aumento no número de bactérias provocou ajustes no método (primeiro teste) onde o número de bactérias foi reduzido para as análises o que ainda não foi suficiente para o resultado esperado.

Talvez um método onde se impregne as bactérias diretamente na superfície do cateter, deixando-as fora do meio de cultura por tempos pré-estabelecidos e depois fizesse uma *swab* sobre o cateter e transferisse o material coletado pela *swab* para o meio de cultura e então avaliasse se as bactérias morreram com o tempo, poderia ser uma metodologia mais adequada, ou seja, uma metodologia para quantificar o quanto o cateter consegue repelir as bactérias sem a necessidade do meio de cultura, até porque o cateter quando em contato com a pele do paciente não está em meio aquoso. Esta possibilidade poderia trazer resultados em maior conformidade com a real interação entre o cateter e a pele do paciente.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Faz-se necessário aperfeiçoar os métodos de deposição de titânio para polímeros de superfície cilíndrica que estejam em pedaços e avaliações sobre a limpeza do material antes da impregnação.

Sugere-se a utilização de um agente de acoplagem com uma parte orgânica e outra inorgânica para facilitar a incorporação do titânio (inorgânico) com o polímero (orgânico). Para melhor aderência da prata poder-se-ia utilizar uma solução sol gel para as nanopartículas de prata a fim de evitar seu aglomeramento e possibilitando um recobrimento de forma mais homogênea.

Sugere-se estudar novas formas de testes de ação antibacterianas para superfícies cilíndricas a fim de se fazer a contagem de colônias para comparações de resultados de efeito antibacteriano e assim conseguir mensurar qual a melhor concentração de prata para o efeito antibacteriano em cateteres.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALARCON, E. I.; GRIFFITH M.; UDEKWU, K. I. ***Silver Nanoparticle Applications: In the Fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices***. Switzeilaist: Springer, 2015.

ALCANTARA JR., P. ***Espectroscopia Molecular***. Curso Física Moderna II. Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Departamento de Física. Março, 2002.

ALMEIDA, G. S. G de; SOUZA, W. B. ***Técnico em plásticos*** – Módulo 3, v. 1, São Paulo: Érica, 2015.

ALMEIDA, M. K. ***Fotocatálise heterogênea aplicada na degradação do corante rodamina-B utilizando nanopartícula de dióxido de titânio***. (Tese). Gestão e Tecnologia Ambiental. Universidade de Santa Cruz do Sul. Santa Cruz do Sul, 2011. Disponível em: <https://livrozilla.com/doc/887531/disserta%C3%A7%C3%A3o-aur%C3%ADcio-knack-de-almeida>. Acesso em 30 nov 2016.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ***Investigação e controle de bactérias multirresistentes***. Unidade de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Efeitos Adversos –UIPEA Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde – GGTES, mai. 2007.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ***Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico***: Norma Aprovada – M7-A6 Vol. 23 No. 2. 6ª Ed. NCCLS.Organização Pan Americana de Saúde. Edição ATMnacional, 2008.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Infecção de Corrente Sanguínea. ***Orientações para Prevenção de Infecção Primária de Corrente Sanguínea***. Unidade de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Efeitos Adversos –UIPEA Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde – GGTES, ago. 2010.

BIOMEDICAL Equipamentos e Produtos Médico-Cirúrgicos Ltda. (Catálogo comercial). Disponível em: <http://biomedical.ind.br>. Acesso em: 04 jan. 2015.

CAMPOS, C. E. M. ***Estudo de propriedades físicas de nanomateriais produzidos por síntese mecânica***. (Tese). Física. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/102962/211685.pdf?sequence=1>. Acesso em: 30 nov 2016.

CARLOTTI, A. P. C. Acesso Vascular. Simpósio: emergências pediátricas. Capítulo V. ***Revista Medicina***, v. 45, n. 2, 208-214. 2012.

CONCEIÇÃO, F. R. **Morfologia e Citologia Bacteriana**. Disponível em: <<http://slideplayer.com.br/slide/288938/>>. Acesso em 5 dez 2017.

COOPER, S. L.; VISSER, S. A.; HERGENROTTER, R. W.; LAMBA, N. M. K. Polymers. Cap. 2: Classes of Materials Used in Medicine. In: **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. 2 Ed. London : Academic Press, 2004.

FEITOSA, M. A. F. **Compatibilização da blenda polimérica de poliamida 6,6/Polietileno de baixa densidade utilizando radiação ionizante de feixe de elétrons**. 2008. 49 p. (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

FERNANDES, A. T.; RIBEIRO, N. F. Infecção do Acesso Vascular. In FERNANDES, A. T.; RIBEIRO, N. F. (org). **Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área da Saúde**. p. 556-79. São Paulo: Atheneu; 2000.

FILHO, T. L., ROCHA, C. T. da; FERREIRA, G. A. M.; SOUZA, M. C. de. **Energia ionizante na conservação de alimentos: revisão**. B.CEPPA, Curitiba, v. 30, n. 2, jul./dez. Curitiba. 2012. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/30501>>. Acesso em nov. 2016.

HARADA, N. S. **Desenvolvimento de membranas compósitas de poliuretano pelo processo de eletrofiliação**. 2014. 97 p. (Mestrado em Ciências) – Escola Politécnica Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>>. Acesso em: 10 nov. 2016.

HEILMAN, S. **Efeito da radiação ionizante nos revestimentos de cateteres de poliuretano com nanopartículas de prata**. 2015. 90 p. (Doutorado em Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

HEWER, T. L. R. **Preparação, modificação, caracterização e aplicação de catalisadores visando a degradação de compostos orgânicos poluentes por processos oxidativos avançados**. 2010. 162 p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

IRAVANI, S.; KORBOKANDI, H.; MIRMOHAMMADI, S. V.; ZOLFAGHARI, B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. US National Library of Medicine. National Institutes of Health. Journal List. **Research in Pharmaceutical Sciences**. v. 9, Nov-Dec, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4326978/>>. Acesso em 17 out 2016.

JOHNSON & JOHNSON. KENNETH, B. W.; RONALD, E. C.; HENTSCHEL, P.; BRODOWSKI, W. **Cateter, tubo de poliuretano, poliuretano radiopaco**. USA Pat. PI9202569-2, 10 jul.1992.

KAPOOR, S.; LAWLESS, D.; KENNEPOHL, P.; MEISEL, D.; SERPONE, N. *Reduction and aggregation of silver ions in aqueous gelatin solutions. Langmuir*, v. 10, p. 3018-3022, 1994.

KNETSCH, M. L. W.; KOOLE, L. H. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. *Polymers*, v.3. p. 340-366, 2011.

LACHTERMACHER, M. G.; RUDIN, A. Processo reativo do polietileno linear de baixa densidade na extrusora de dupla rosca. I. Efeito do tratamento de peróxido na estrutura molecular. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. p. 32-40, 1994.

LIAO, J.; ANCHUN, M.; ZHU, Z.; QUAN, Y. Antibacterial titanium plate deposited by silver nanoparticles exhibits cell compatibility. *Internacional Journal of Nanomedicine*. v. 5, p. 337-342, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2875727/>. Acesso em set 2016.

LIMA, F. W. *Análise por ativação de controle de materiais de alta pureza*. Informações IEA Nº 9. São Paulo, 1967. Disponível em: https://www.ipen.br/biblioteca/iea/IEA_INF_9.pdf. Acesso em 12 jan. 2016.

MAKUUCHI, K. CHENG, S. *Radiation Processing of Polymer Materials and Its Industrial Applications*. 1 ed. John Wiley & Sons, Inc. Published, 2012.

McGEE, D. C.; GOULD, M. K. Preventing Complications of Central Venous Catheterization. *The New England Journal of Medicine*. v. 448, n. 12, p. 1123-1133, 2013.

MENDONÇA, M. V. *Preparação, caracterização e estudos biológicos das nanopartículas de prata in vitro nas bactérias pneumônicas*. (TCC) Curso de Fisioterapia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC. CRICIÚMA, JUNHO de 2009.

MESSIANO, E. R. A. B; MERCHÁN-HAMANN, E. Infecções da corrente sanguínea em pacientes em uso de cateter venoso central em unidades de terapia intensiva. *Revista Latino-americana de Enfermagem*. v. 15, n. 3, p. 453-459, 2007.

NCCLS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition*. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/clsi/clsi_OPASM7_A6.pdf>. Acesso em 05 jul. 2017.

O' DONNELL, J. H.; SANGSTER, D. F. *Principles of Radiation Chemistry*. Edward Arnold LTD, 1970

OHKO, Y.; UTSUMI, Y.; NIWA, C.; TATSUMA, T.; KOBAYAKAWA, K.; SATOH, Y.; KUBOTA, Y.; FJISHIMA, A. Self-Sterilizing and Self-Cleaning of Silicone Catheters

Coated with TiO₂ Photocatalyst Thin Films: A Preclinical Work. **Journal of Biomedical Materials Research: Applied Biomaterials**. v. 58, p. 97–10, 2001.

OLIVEIRA, A. C. F. **Estudo dos efeitos da radiação Gama no polietileno linear de Baixa densidade (PEBLD) injetado**. (Tese) Ciências – Tecnologia Nuclear – Materiais. Instituto de Pesquisas Energéticas E Nucleares (IPEN/USP). São Paulo. 2014. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>>. Acesso em: 18 mai. 2016.

PARUSSOLO, A. L. A.; SOUZA, V. R. de; NAKATANI, H. S. **Obtenção fotoquímica de nanopartículas de prata e seu interfaceamento em eletrodo**. 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2007. Disponível em: <http://sec.sbq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T1307-1.pdf>. Acesso em 06 jan 2016.

PAUKSCH, L.; HARTMAN, S.; SZALAY, G.; ALT, V.; SCHNETTLER, R.; LIP, K. S. Biocompatibility of an antibacterial nanosilver-coated titanium implant on primary human mesenchymal stem cells and osteoblasts. **International Journal of Biological & Medical Research**. v. 4, p. 3719-3726, 2013.

PARK, J. B; BRONZINO, J. D. **Biomaterials: principles and applications**. Boca Ranton: CRC Press, 2003.

PENA, A. A. **Dióxido de titânio para aplicação em células solares**. (TCC). Química. Universidade Federal de São João del-Re. São João del-Rei, 2015. Disponível em: http://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/coqui/TCC/Monografia-TCC-Aline_L_Pena-20151.pdf. Acesso em: 6 de nov. 2016.

PIRES, N. R. **Hidrogéis de polissacarídeos incorporados com nanopartículas de prata para aplicações oftalmológicas**. 2013. Disponível em: <<https://www.emaze.com/@A00QCOLR/Projeto-de-doutorado.pptx>>. Acesso em 20 mai 2017.

ROOHPUR, N.; MOSHAVENIRIA, A.; WASIKIEWICS, J. M.; PAUL, D.; WILKS, M.; MILLAR, M.; VADGAMA, P. *Development of bacterially resistant polyurethane for coating medical devices*. **Biomedical Materials**, v. 7, n. 1, p. 01-10, 2012.

SANTOS, H. S. **Artérias, veias e capilares**. Disponível em <<https://biologianet.uol.com.br/anatomia-fisiologia-animal/artérias-veias-capilares.htm>>. Acesso em: 17 abr. 2018.

SILVA, R. G.; CARVALHO, W. L. Hospitais Sentinela da ANVISA **Notificações de Tecnovigilância envolvendo Cateteres Venosos Centrais**. SINEPS - 2006 e NOTIVISA – 2007. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a52d3000474581028d3ddd3fbc4c6735/analiseCateteresVenosos.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 06 de jan. 2016.

SONAI, G. G. **Preparação e caracterização de nanopartículas de Prata em meio aquoso e orgânico, com impregnação em borrachas de silicone contendo RuCl₂(vpy)₄ para fim antimicrobiano**, (TCC) – UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

TRENTIN, D. S.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, v. 14, n. 22, p. 113-238, 2013.

TRINDADE, E.; HOFMEISTER, M. G.; FORNAZIER, C.; CRUZ, C. F.; ALMEIDA, K.; TORELLY, E. M.; OTUBO, E. L.; NOGUEIRA, J. O.; RAMOS, M.; MATTOS, M. C.; Hospitais Sentinela da ANVISA. **Notificações de Tecnovigilância envolvendo Cateteres Venosos Centrais**. SINEPS - 2006 e NOTIVISA – 2007. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a52d3000474581028d3ddd3fbc4c6735/analiseCateteresVenosos.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: jan. 2017.

WIEBECK, H.; HARADA, J. **Plásticos de Engenharia: Tecnologia e Aplicações**. São Paulo: Artliber, 2005.

WILSON, S. E. **Vascular access: principles and practice**. 5 ed. Philadelphia:Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. p. 5-6, 2010.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

**O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada
à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela
Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do
Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.**